**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS**

**DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**Patrícia Gentz**

# Como a flor pode nos ajudar a compreender a circunscrição de *Parodia* Speg. (Cactaceae)? Um estudo da anatomia floral e dos processos de megasporogênese e megagametogênese

**Porto Alegre**

**2025**

**Patrícia Gentz**

# Como a flor pode nos ajudar a compreender a circunscrição de *Parodia* Speg. (Cactaceae)? Um estudo da anatomia floral e dos processos de megasporogênese e megagametogênese

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Botânica com ênfase em Anatomia Vegetal na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araújo Mariath

Porto Alegre

2025

CIP - Catalogação na Publicação

Gentz, Patrícia
Como a flor pode nos ajudar a compreender a circunscrição de Parodia Speg. (Cactaceae)? Um estudo da anatomia floral e dos processos de megasporogênese e megagametogênese / Patrícia Gentz. -- 2025.
153 f.
Orientador: Jorge Ernesto de Araújo Mariath.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Porto Alegre, BR-RS, 2025.

1. Anatomia Vegetal. 2. Embriologia Vegetal. 3. Anatomia floral. I. Mariath, Jorge Ernesto de Araújo, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

# ATA 14/2025

Nome da aluna: Patrícia Gentz

Orientador: Jorge Ernesto de Araujo Mariath

Tipo de defesa (dissertação/tese): Tese

Título da tese: Como a flor pode nos ajudar a compreender a circunscrição de *Parodia* Speg. (Cactaceae)? Um estudo da anatomia floral e dos processos de megasporogênese e megagametogênese

Data: 27 de novembro de 2025

Horário: 09h

Local: Mconf – https://mconf.ufrgs.br/webconf/00002334

Banca Examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
SHIRLEY MARTINS SILVA
Data: 27/11/2025 12:51:46-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Shirley Martins Silva (UNIOESTE)

Prof. Dr. Luiz Antônio de Souza (UEM)

Profa. Dra. Tatiana Teixeira de Souza Chies (UFRGS – RS)

gov.br Documento assinado digitalmente
TATIANA TEIXEIRA DE SOUZA CHIES
Data: 27/11/2025 18:13:47-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Avaliação Geral da Banca: (X) Aprovada ( ) Reprovada

Correções solicitadas: (X) Sim ( ) Não

Indicação de Voto de Louvor: (X) Sim ( ) Não

**Observação**: Esta Ata não pode ser considerada como instrumento final do processo de concessão de título ao aluno.

Porto Alegre, 27 de novembro de 2025.

gov.br Documento assinado digitalmente
JORGE ERNESTO DE ARAUJO MARIATH
Data: 27/11/2025 19:49:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Av. Bento Gonçalves, 9500 / Bloco 4, Prédio 43433 – sala 214, Campus do Vale
91501-970 – Porto Alegre / RS – Brasil
Telefones: (51) 3308 7686 (Secretaria) e 7672 (Coordenação)



*A você, que por algum motivo se interessou pelo meu trabalho e lhe dá vida ao folheá-lo ou – mais provavelmente – ao navegar por suas páginas.*

**Agradecimentos**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos que viabilizou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge E. de A. Mariath, com quem tive a honra de trabalhar durante toda a minha pós-graduação. Agradeço por me acompanhar nessa jornada, por seus ensinamentos, pela escuta acolhedora e pelo entusiasmo de sempre – que, muitas vezes, me contagiou.

A Filipe Bernardi, Ingo Horst, Jardim Botânico de Porto Alegre e Jones Caldas da Silva, por gentilmente contribuírem com o material vegetal necessário para as análises realizadas. Em especial, agradeço à Dra. Natividad F. Fagundes, que me auxiliou durante as coletas no Jardim Botânico e tornou possível a coleta de *Parodia rechensis* em ambiente natural.

Ao meu parceiro de vida – e, por alguns anos, de laboratório – Rhaniel N. L. Gonçalves, por toda ajuda e conhecimento compartilhado. Agradeço também por me acalmar nos momentos difíceis, comemorar os momentos felizes e sempre me lembrar de que eu era capaz.

Aos amigos que me acompanharam durante essa jornada, José F. Richit e Henrique M. Büneker, com quem compartilhei o dia a dia no laboratório, inseguranças, descobertas e boas risadas.

Aos membros titulares e suplentes da banca examinadora, por aceitaram o convite para participar da banca e por suas contribuições;

Ao corpo técnico do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRGS, pelo auxílio prestado durante a realização deste trabalho.

**Resumo**

Cactaceae é a segunda maior família de plantas vasculares endêmicas do continente americano, com cerca de 130 gêneros e 1880 espécies. A família se destaca pela diversidade vegetativa e floral, bem como pela delimitação problemática de seus gêneros e espécies. Nesse contexto, *Parodia* é um exemplo ilustrativo, pois, além da diversidade de formas, o gênero apresenta um histórico taxonômico conflituoso e uma extensa lista de sinônimos, tanto ao nível genérico quanto específico. Entre esses sinônimos estão os antigos gêneros *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus* e *Wigginsia*, que foram incorporados a *Parodia* em 1986. No entanto, discussões sobre suas posições taxonômicas acompanham os gêneros desde a sua criação e persistem até os dias atuais. Nessas discussões, a flor sempre foi de grande utilidade, revelando-se uma fonte relevante de caracteres taxonômicos. Contudo, apenas características morfológicas foram consideradas, o que nos leva à seguinte reflexão: um novo olhar sobre a flor de *Parodia* pode revelar caracteres adicionais, úteis para as discussões em torno de sua circunscrição? Diante disso, este estudo tem como objetivo fornecer novos dados sobre *Parodia* por meio da análise da anatomia floral e da embriologia de seis espécies, cada uma representando um dos seis antigos gêneros, incluindo *Parodia sensu stricto*. Com isso, buscamos contribuir com caracteres de potencial valor taxonômico que auxiliem na delimitação do gênero e, consequentemente, ampliem o conhecimento nessas áreas dentro de Cactaceae. Como resultado do estudo, as duas áreas estudadas revelaram características compartilhadas entre as espécies de *Parodia*, sugerindo a presença de um ancestral em comum. Por outro lado, também foram observadas particularidades que permitem a diferenciação entre as espécies. Na embriologia destacam-se a presença de tríades ou tétrades de megásporos, apomixia gametofítica do tipo diplosporia mitótica, divisão de arquesporos e diferentes mecanismos de seleção celular ao longo do desenvolvimento do óvulo. Na anatomia floral, as características distintivas entre as espécies foram observadas nas tépalas (posição dos estômatos em relação às demais células epidérmicas; presença ou ausência de gotículas polissacarídicas subcuticulares), no pericarpelo e no ovário (presença ou ausência de drusas e idioblastos de mucilagem), no estilete (tipo de feixes vasculares; tipo de tricomas na epiderme interna), no estigma (presença ou ausência de estômatos) e no filete (presença ou ausência de idioblastos de mucilagem). A partir de uma extensa revisão bibliográfica, foram identificadas características inéditas para Cactaceae, como os

polissacarídeos e gotículas polissacarídicas subcuticulares presentes na maioria das estruturas florais; os estômatos do tipo paracítico nas tépalas; o deslocamento de mucilagem no estilete; e os grânulos pécticos do tecido de transmissão do tubo polínico do estilete e do estigma. Na embriologia, o padrão atípico de deposição de calose durante a megasporogênese representa o primeiro relato para a família e pode ser considerado exclusivo de Cactaceae. Além disso, uma das espécies analisadas, criticamente ameaçada de extinção, apresentou má formação dos óvulos, o que pode estar contribuindo para o declínio de sua população. Dessa forma, o estudo da flor de *Parodia*: (1) reforçou seu uso como fonte de caracteres de potencial valor taxonômico, (2) demonstrou que a atual circunscrição de *Parodia*, incluindo os antigos gêneros *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus* e *Wigginsia*, pode não ser a mais adequada e (3) revelou caracteres inéditos para Cactaceae, a maioria não registrada em nenhuma outra família de angiospermas.

**Palavras-chave**: *Acanthocephala*; androceu; apomixia; *Brasiliparodia*; calose; embriologia vegetal; *Eriocephala*; gineceu; *Notocactus;* perigônio; *Wigginsia*.

**Abstract**

Cactaceae is the second largest family of vascular plants endemic to the American continent, with around 130 genera and 1880 species. The family is notable for its vegetative and floral diversity, as well as the problematic delimitation of its genera and species. In this context, *Parodia* is an illustrative example, as in addition to its diversity of forms, the genus presents a conflicting taxonomic history and an extensive list of synonyms, both at the generic and specific level. Among these synonyms are the former genera *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus* and *Wigginsia*, which were incorporated into *Parodia* in 1986. However, discussions about their taxonomic positions have accompanied the genera since their creation and persist to this day. In these discussions, the flower has always been of great utility, proving to be a relevant source of taxonomic characters. However, only morphological characteristics have been considered, which leads us to the following reflection: can a new look at the flower of *Parodia* reveal additional characters, useful for the discussions surrounding its circumscription? In light of this, this study aims to provide new data on *Parodia* through the analysis of the floral anatomy and embryology of six species, each representing one of the six former genera, including *Parodia sensu stricto*. With this, we seek to contribute with characters of potential taxonomic value that assist in delimiting the genus and, consequently, expand knowledge in these areas within *Cactaceae*. As a result of the study, both areas analysed revealed characteristics shared among the species of *Parodia*, suggesting the presence of a common ancestor. On the other hand, particularities were also observed that allow differentiation between the species. In embryology, the highlights are the presence of triads or tetrads of megaspores, gametophytic apomixis of the diplosporic mitotic type, archespore division and different mechanisms of cell selection during ovule development. In floral anatomy, distinctive characteristics between species were observed in the tepals (position of the stomata in relation to other epidermal cells; presence or absence of subcuticular polysaccharide droplets), in the pericarpel and ovary (presence or absence of druses and mucilage idioblasts), in the style (type of vascular bundles; type of trichomes in the inner epidermis), in the stigma (presence or absence of stomata) and in the filament (presence or absence of mucilage idioblasts). From an extensive literature review, previously unrecorded characteristics were identified for *Cactaceae*, such as subcuticular polysaccharides and droplets present in most floral structures; paracytic stomata in the tepals; mucilage displacement in the style; and pectic

granules in the pollen tube transmitting tract of the style and stigma. In embryology, the atypical pattern of callose deposition during megasporogenesis represents the first report for the family and may be considered exclusive to *Cactaceae*. Furthermore, one of the species analysed, critically endangered, presented ovule malformation, which may be contributing to the decline of its population. In this way, the study of the flower of *Parodia*: (1) reinforced its use as a source of characters of potential taxonomic value, (2) demonstrated that the current circumscription of *Parodia*, including the former genera *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus* and *Wigginsia*, may not be the most adequate, and (3) revealed previously unrecorded characters for *Cactaceae*, most not registered in any other angiosperm family.

**Key-words**: *Acanthocephala*; androecium; apomixis; *Brasiliparodia*; calose; *Eriocephala*; gynoecyum; *Notocactus;* perigonium; plant embriology; *Wigginsia*.

**Sumário**

**Introdução geral** ..... 1
**Referências bibliográficas** ..... 15
**Objetivos** ..... 21
Objetivo geral ..... 21
Objetivos específicos ..... 21
**Novelties in the embryology of *Parodia* (Cactaceae) and its potential application to the genus taxonomy** ..... 22
Abstract ..... 24
Introduction ..... 26
Materials and methods ..... 28
Results ..... 30
Discussion ..... 34
Literature cited ..... 44
**xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx**
Abstract ..... 70
Introduction ..... 71
Material and methods ..... 73
Results ..... 75
Discussion ..... 80
Conclusions ..... 90
References ..... 93
**Considerações finais** ..... 133

## Introdução geral

### *Cactaceae*

Com distribuição quase exclusivamente americana, Cactaceae é a segunda maior família de plantas vasculares endêmicas do continente (Barthlott e Hunt 1993, Silva *et al*. 2011). Sua ocorrência fora das Américas se restringe a uma espécie de *Rhipsalis*, que também ocorre na África, em Madagascar e no Sri Lanka (Barthlott e Hunt 1993). A família é dividida em quatro subfamílias: Pereskioideae, cujas espécies preservam diversos caracteres considerados ancestrais, como a presença de folhas; Maihuenioideae, que inclui apenas o gênero *Maihuenia*, com espécies com metabolismo fotossintético exclusivamente C3; Opuntioideae, que abrange os cactos conhecidos como figueiras-da-índia e espécies relacionadas, caracterizados pela presença de gloquídios; e Cactoideae, a subfamília mais representativa em número de espécies (Anderson 2001, Nyffeler e Eggli 2010, Bárcenas *et al*. 2011). De acordo com Nyffeler e Eggli (2010), a família compreende 1880 espécies e pelo menos 130 gêneros, distribuídos da seguinte forma: Cactoideae engloba 1498 espécies distribuídas em 112 gêneros; Opuntioideae, 349 espécies em 16 gêneros, além de 14 espécies de posição genérica incerta (*incertae sedis*); Pereskioideae, 17 espécies em um gênero; e Maihuenioideae, duas espécies em um único gênero.

Segundo Buxbaum (1950), poucas famílias de plantas apresentam a diversidade de formas observada em Cactaceae. Como resultado, as classificações são extensas. Um cacto pode ser classificado como cilíndrico (ou colunar) – simples ou ramificado, segmentado ou não segmentado, curto ou longo – ou globoso (ou globular). Outra classificação diz respeito à sua forma de crescimento, ou seja, se ocorre isoladamente, apresentando um único caule – cilíndrico ou globoso – ou se forma grupos, com vários caules originados de uma base comum (Anderson 2001). Os caules podem ser tuberculados, costados, alados ou achatados, e apresentam gemas axilares denominadas aréolas, a partir das quais se originam novos ramos vegetativos, flores e espinhos, entre outras estruturas (Buxbaum 1950, Barthlott e Hunt 1993). Os espinhos são resultantes da modificação das escamas e folhas das gemas axilares, responsável pela redução ou ausência de folhas na maioria das espécies (Buxbaum 1950, Barthlott e Hunt 1993). Em Pereskioideae, no entanto, as espécies apresentam folhas conspícuas, simples, inteiras e persistentes (Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009).

As flores de Cactaceae são igualmente diversas. Na maioria dos casos, cada aréola produz uma única flor, séssil e solitária. Flores agrupadas são raramente observadas, sendo resultado da divisão de uma aréola em várias partes, cada uma capaz de originar uma flor (Buxbaum 1950, Barthlott e Hunt 1993). As flores são monoicas, geralmente campanuladas e actinomorfas, apresentando tendência à zigomorfia nas espécies epífitas (Barthlott e Hunt 1993, Pimienta-Barrios e del Castillo 2002). O perigônio apresenta numerosas tépalas, inseridas na borda do hipanto, geralmente livres, todas petaloides ou as mais externas sepaloides e as mais internas petaloides (Judd *et al*. 2009, Carneiro *et al*. 2016). O ovário é circundado pelo ápice de um caule modificado, denominado pericarpelo; devido à sua origem, o pericarpelo apresenta aréolas portadoras de espinhos e outras estruturas, como tricomas. Aréolas de composição semelhante também podem ser observadas na superfície externa do hipanto (Buxbaum 1967, Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009), localizado entre o conjunto pericarpelo/ovário e as tépalas. Na superfície interna do hipanto estão inseridos os estames e, abaixo da inserção dos estames mais internos, ao redor da base do estilete, observa-se a presença de um nectário (Buxbaum 1967, Judd *et al*. 2009). O ovário é ínfero (exceto em algumas espécies de *Pereskia*), unilocular, formado por 3 a 20 carpelos conatos e porta numerosos rudimentos seminais (Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009). A conação dos carpelos estende-se ao longo de todo o estilete, normalmente alongado, e termina na região apical, onde as extremidades livres originam um estigma lobado e radial (Buxbaum 1967, Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009). Os estames são numerosos, com anteras tetrasporangiadas com deiscência longitudinal (Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009, Pimienta-Barrios e del Castillo 2002). O fruto é suculento ou seco, glabro ou com aréolas portadoras de tricomas lanosos, espinhos, cerdas e/ou gloquídios (Opuntioideae), em decorrência da participação do pericarpelo na formação do fruto (Barthlott e Hunt 1993, Judd *et al*. 2009). As sementes são numerosas, apresentam coloração variada (acinzentada, amarelada, marrom ou preta), além de formatos e ornamentações da testa diversos (Barthlott e Hunt 1993, Barthlott e Hunt 2000, Anderson 2001).

*Parodia Speg.*

*Parodia* é um gênero sul-americano de cactos pertencente à tribo Notocacteae, subfamília Cactoideae. O gênero ocorre nas regiões de planícies do pampa – no sul do Brasil, Uruguai, nordeste da Argentina e leste do Paraguai; e ao longo da encosta oriental dos Andes, no noroeste da Argentina e no leste da Bolívia –, e em áreas de Mata Atântica

– nos estados do Paraná e Santa Catarina (Machado *et al*. 2008, Zappi e Taylor 2025). Das 61 espécies de *Parodia*, 36 estão classificadas nas categorias de maior risco da *International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Threatened Species*. Dentre as principais ameaças ao gênero, destacam-se as atividades agropecuárias em pequena e grande escala, bem como a extração de plantas nativas (IUCN 2025).

Os cactos pertencentes ao gênero *Parodia* apresentam grande variabilidade individual e aparência muito diversa (Fig. 1A–E, H). Seu crescimento ocorre de maneira isolada ou agrupada. O caule pode ser cilíndrico a globoso, costado e tuberculado. As costelas, quando em pequeno número, são conspícuas e mais ou menos agudas (Fig. 1B, D); quando numerosas, tornam-se inconspícuas e arredondadas (Fig. 1E); sua disposição em espiral é comum. As aréolas jovens são densamente lanosas, razão pela qual o ápice caulinar muitas vezes apresenta esse mesmo aspecto (Fig. 1D, F–H). Cada aréola apresenta dois tipos de espinhos: radiais, dispostos nas margens da aréola, e centrais (Fig. 1I–L). Ambos os tipos variam em número, cor (brancos, amarelos, castanhos, pretos, por exemplo) e formato (aguliformes, unciformes e/ou cerdosos) (Fig. 1I–L) (Buxbaum 1967, Anderson 2001, Carneiro *et al*. 2016).

As flores, vistosas e diversas, surgem próximas ao ápice caulinar (Fig. 2A) ou diretamente sobre ele (Fig. 2B, C) (Buxbaum 1967). A coloração predominante das tépalas é amarela (Fig. 2A–H), embora também sejam observadas flores laranjas (Fig. 2I, J), vermelhas (Fig. 2K, L), rosas (Fig. 2M) e verdes. Seu formato pode ser afunilado (Fig. 2K, N) ou campanulado acima do pericarpelo (Fig. 2O). Este último pode ser glabro ou apresentar aréolas portadoras de espinhos finos, retos ou levemente curvados, aguliformes ou cerdosos, além de tricomas lanosos, mais ou menos abundantes de acordo com a espécie (Fig. 2B, C, N, O); aréolas de composição semelhante também ocorrem no hipanto (Fig. 2B, C, N, O) (Buxbaum 1967, Anderson 2001). Internamente ao pericarpelo, o ovário abriga numerosos rudimentos seminais do tipo campilótropo (Gentz *et al*. 2023). Na parede interna do hipanto originam-se numerosos estames (Fig. 2P), divididos ou não em dois grupos, que se estendem da borda do hipanto até a região do nectário floral, localizado ao redor da base do estilete (Fig. 2P) (Buxbaum 1967). O estilete é ligeiramente maior do que os estames e, em seu ápice, apresenta um estigma lobado, com lóbulos estigmáticos radialmente espalhados ou inclinados, e coloração que varia entre o amarelo, vermelho e roxo (Fig. 2A, D–M) (Buxbaum 1967, Anceschi e Magli 2018).




**Figura 1**. Características do corpo vegetativo de *Parodia*. A, *Parodia leninghausii*. B, *Parodia magnifica*. C, *Parodia microsperma*. D, *Parodia erinacea* (setas: costelas). E, *Parodia haselbergii*. F, ápice caulinar lanoso de *P. erinacea*. A lã marrom indica a presença de botões florais (setas). Um botão floral foi exposto após a retirada da lã marrom (cabeça de seta). G, ápice caulinar lanoso de *P. leninghausii*. H, ápice caulinar lanoso de *Parodia neohorstii*. I, detalhe das aréolas de P. *magnifica*. J, detalhe das aréolas de *Parodia mammulosa* (setas: espinhos centrais; cabeças de seta: espinhos radiais). K, detalhe das aréolas de *P. microsperma* (setas: espinhos centrais em formato de gancho). L, detalhe das aréolas de *Parodia ottonis* (seta: espinho central; cabeça de seta: espinho radial). Imagens A–C, G–L: ©Jorge Mariath.




**Figura 2**. Flores de *Parodia*. A, flores de *Parodia scopa* de localização subapical. B, flor de *Parodia ottonis* de localização apical. C, botões florais de *Parodia alacriportana* de localização apical. D, flor de *Parodia claviceps*. E, flor de *Parodia erinacea*. F, flor de *Parodia leninghausii*. G, flor de *Parodia mammulosa*. H, flor de *P. ottonis*. I, flor de *Parodia horstii*. J, flor de *Parodia mairanana*. K, flor de *Parodia haselbergii*. L, flor de *Parodia microsperma*. M, flor de *Parodia crassigibba*. N, flor de *P. mammulosa*, com destaque para a composição das aréolas do pericarpelo e do hipanto. O, flor de *P. leninghausii*, com destaque para a

composição das aréolas do pericarpelo e do hipanto. P, flor de *P. microsperma* seccionada longitudinalmente. eg = estigma; et = estilete; hi = hipanto; ov = ovário; pe = pericarpelo; st = estames; círculos de linha pontilhada = região de ocorrência do nectário floral. Imagens A – H, L, N e O: ©Jorge Mariath.

Os frutos são globosos a claviformes ou cilíndricos, secos ou quase secos, lanosos (Fig. 3A), cerdosos (Fig. 3B) ou lanosos e cerdosos (Fig. 3C), com deiscência longitudinal (Fig. 3C) ou basal (Buxbaum 1967, Anderson 2001). As sementes são geralmente pequenas, com coloração que varia do castanho ao castanho-avermelhado até preto, e apresentam grande variedade de formatos, que vão de globoso, semiesférico, ovoidal e campanulado até formas semelhantes a chapéu, boné ou capacete (Buxbaum 1967, Anceschi e Magli 2018).

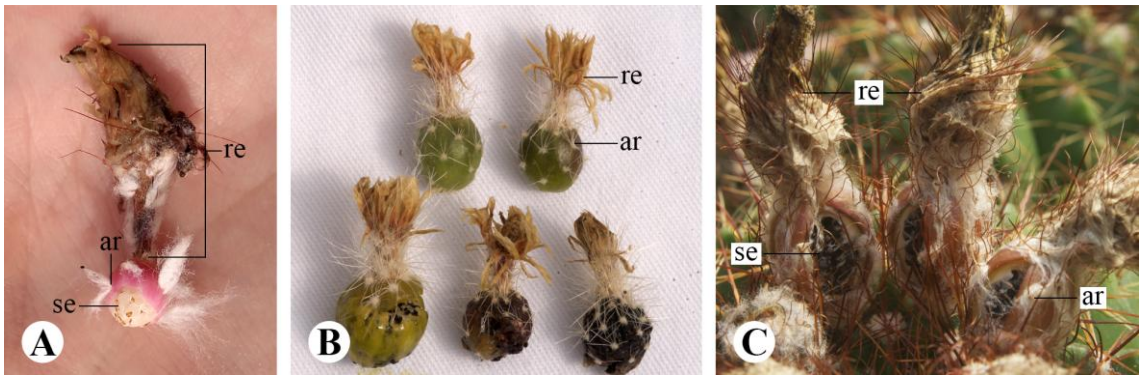



**Figura 3**. Frutos de *Parodia*. A, fruto imaturo de *Parodia erinacea*. B, frutos em diferentes estádios de desenvolvimento de *Parodia haselbergii*. C, frutos maduros de *Parodia ottonis*. ar = aréola; re = remanescentes florais; se = sementes. Imagens B e C: ©Jorge Mariath.

*Histórico taxonômico de Parodia*

A história do gênero tem início em 1922, quando os norte-americanos Nathaniel Lord Britton e Joseph Nelson Rose descreveram um novo gênero sul-americano, nomeado *Hickenia* Britton & Rose (Britton e Rose 1922). São atribuídos ao gênero cactos pequenos, geralmente globosos e com espinhos abundantes. As costelas são mais ou menos definidas, tuberculadas e às vezes dispostas em espiral. Os espinhos dividem-se em centrais e radiais, com destaque para um dos centrais, fortemente curvado e em formato de gancho. As flores são subcampanuladas, com pericarpelo e hipanto floral apresentando aréolas portadoras de tricomas lanosos e cerdas. Os frutos são oblongos, com sementes abundantes, diminutas, marrons e lisas. O gênero era monoespecífico e sua

única espécie, nativa da Argentina, era *Hickenia microsperma* Weber. Entretanto, os autores já previam que futuras segregações pudessem ocorrer, devido à diversidade de características morfológicas observada na espécie (Britton e Rose 1922).

Embora atentos à diversidade morfológica e suas possíveis implicações futuras, Britton e Rose não se atentaram que o nome *Hickenia* era um homônimo de um gênero pertencente à família Asclepiadaceae, o que tornava *Hickenia* Britton & Rose um nome ilegítimo (Spegazzini 1923). A ilegitimidade do gênero proposto foi apontada pelo italiano Carlo Luigi Spegazzini cerca de um ano após sua publicação. O autor também substituiu o nome ilegítimo por *Parodia* Speg. e descreveu uma nova espécie para o gênero: a paraguaia *Parodia paraguayensis* Speg. (Spegazzini 1923). Alguns autores consideram essa descrição como o início da ligação entre os gêneros *Parodia* e *Notocactus* (K.Schum.) Frič (Anceschi e Magli 2018), pois, em 1999, a espécie foi tratada como sinônimo de *Parodia ottonis* (Lehm.) N.P.Taylor (Hunt 1999a), anteriormente *Notocactus ottonis* (Lehm.) A.Berger, espécie tipo de *Notocactus*.

O nome *Notocactus* foi utilizado pela primeira vez em 1898 pelo alemão Karl Moritz Schumann para designar um dos dois novos subgêneros de *Echinocactus* Link & Otto; o outro subgênero era *Malacocarpus* Salm-Dyck (Schumann 1899). Em 1922, Britton e Rose elevaram *Malacocarpus* ao nível de gênero, passando este a englobar as espécies anteriormente pertencentes a *Notocactus*, tornando-se um gênero amplo, com 29 espécies (Britton e Rose 1922). Com o passar dos anos, mais especificamente em 1928, *Notocactus* voltou a surgir na literatura, desta vez como gênero, utilizado pelo tcheco Alberto Vojtech Frič. O nome foi publicado no catálogo comercial de cactos de Frič e atribuído a espécies globosas, com flores amarelas e frutos secos e espinhosos (Frič 1928). Possivelmente devido à dificuldade de acesso à publicação original, o nome foi posteriormente atribuído a diversos autores que o utilizaram, incluindo o alemão Alwin Berger, que, em 1929, transferiu espécies de *Malacocarpus* para *Notocactus* A.Berger, restringindo o primeiro a apenas seis espécies com ápice lanoso e fruto mole e rosado (Berger 1929, Mace 1975, Anceschi e Magli 2018). Tal como *Hickenia*, *Malacocarpus* era igualmente um nome ilegítimo e foi substituído por *Wigginsia* D.M.Porter em 1964 (Porter 1964).

Assim como *Malacocarpus*, *Notocactus* também passou por uma mudança significativa na década de 1960. Em 1966, o alemão Curt Backeberg retirou espécies de

*Notocactus sensu* Berger e as alocou em dois novos gêneros: *Brasilicactus* Backeb.e *Eriocactus* Backeb. (Backeberg 1977). Backeberg relatava ter dificuldade em entender por que as espécies de *Brasilicactus* eram frequentemente atribuídas a *Notocactus*, pois, segundo ele, as flores de tubo floral curto do primeiro eram únicas entre os outros cactos globosos sul-americanos, e os frutos de ambos os gêneros eram claramente distintos. Quanto às diferenças entre *Eriocactus* e *Notocactus*, Backeberg apontou o tamanho relativamente maior das plantas do primeiro na maturidade, a presença de uma lã apical – nunca observada em *Notocactus* –, além de diferenças entre as flores, frutos e sementes (Backeberg 1977). É importante destacar que ambos os gêneros haviam sido originalmente propostos por Backeberg em 1938, sob os nomes *Acanthocephala* Backeb. (=*Brasilicactus*) e *Eriocephala* Backeb. (=*Eriocactus*) (Backeberg 1938). No entanto, em 1941, o próprio autor optou por renomeá-los, acreditando que fossem homônimos posteriores de *Acanthocephalus* Kar. & Kir. e *Eriocephalus* L., ambos pertencentes à família Asteraceae (Backeberg 1942). Entretanto, de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, os nomes originais não configuravam homônimos, razão pela qual são atualmente considerados nomes genéricos anteriores legítimos (Doweld 2000a, Doweld 2000b).

Ainda em 1966, Backeberg adicionou espécies encontradas no sul do Brasil a um gênero que englobava principalmente espécies andinas, isto é, *Parodia* (Backeberg 1977), o que levou essas espécies a ficarem conhecidas como "parodias brasileiras" (Anceschi e Magli 2018). Em 1967, no entanto, o austríaco Franz Buxbaum, com base em evidências observadas nas sementes, afirmou que as parodias brasileiras pertenciam, na verdade, ao gênero *Notocactus*. Além dessa transferência, Buxbaum realizou uma mudança muito significativa na história dos cactos globosos sul-americanos ao propor que *Brasilicactus* (=*Acanthocephala*), *Eriocactus* (=*Eriocephala*) e *Malacocarpus* (=*Wigginsia*)[1] deveriam ser considerados subgêneros de *Notocactus*, juntamente com *Neonotocactus* Backeb. e *Notocactus* (Buxbaum 1967). O autor defendeu essa agregação com o argumento de que as diferenças observadas entre os três primeiros gêneros e a espécie tipo de *Notocactus* – erroneamente considerada por ele como *Echinocactus scopa* (Spreng.) Link & Otto – eram apenas diferenças graduais, menores do que as observadas entre o subgênero *Neonotocactus*, que, apesar de apresentar diferenças consideráveis, não havia sido

[1] Em sua obra, o autor utiliza os nomes ilegítimos *Acanthocephala*, *Eriocephala* e *Wigginsia*.

separado de *Notocactus* (Buxbaum 1967). Assim, Buxbaum tornou-se o responsável pela formulação do conceito de *Notocactus sensu lato* (*s.l.*)[2].

A criação de um gênero tão heterogêneo dificilmente recebe aceitação unânime entre os pesquisadores que o estudam, e com *Notocactus* não foi diferente. Doze anos após a proposta de Buxbaum, os subgêneros de *Notocactus* – com exceção de *Neonotocactus* – voltaram a receber status de gênero pelo alemão Friedrich Ritter (Ritter 1979). Ritter contestou a decisão de Buxbaum de unir *Brasilicactus* (=*Acanthocephala*), *Eriocactus* (=*Eriocephala*)[3] e *Wigginsia* a *Notocactus sensu stricto* (*s.s.*), argumentando que havia diferenças significativas entre esses grupos, observadas nos espinhos, nas flores, nos frutos e nas sementes. Características florais e da semente também foram utilizadas por Ritter para justificar a criação do gênero *Brasiliparodia* F.Ritter, separando, assim, as "parodias brasileiras" de *Notocactus* (Ritter 1979).

Mais tarde, em 1986, os membros da International Organization for Succulent Plant Study (IOS) se reuniram em busca de um consenso sobre a taxonomia de Cactaceae, família conhecida por ser taxonomicamente difícil devido a problemas na delimitação de seus gêneros e espécies (Judd *et al*. 2009). Na tentativa de adaptar e atualizar classificações anteriores – incluindo as propostas por Buxbaum –, decidiu-se pela união de *Notocactus* e *Parodia s.s*., sob o argumento de que não havia diferenças práticas suficientes para justificar a separação entre os dois gêneros. Assim, foi proposto o conceito de *Parodia s.l.*[4] (Hunt e Taylor 1986). Tanto Buxbaum quanto Ritter reconheciam uma relação entre os gêneros envolvidos e o gênero argentino-boliviano *Parodia s.s*., mas ambos destacavam características que os diferenciavam, principalmente relacionadas às sementes (Buxbaum 1967, Ritter 1979).

Em 1999, com base em dados moleculares ainda não publicados, Nyffeler apresentou três opções aos membros da IOS em relação a *Parodia*: (1) manter *Parodia* incluindo todos os antigos gêneros; (2) reconhecer *Parodia* incluindo apenas *Notocactus s.s*., *Wigginsia* e *Parodia s.s*., com os demais antigos gêneros sendo novamente reconhecidos; ou (3) reconhecer cerca de 7 gêneros distintos, no caso de uma separação

[2] *Notocactus s.l.* engloba os subgêneros *Brasilicactus* (=*Acanthocephala*), *Eriocactus* (=*Eriocephala*), *Malacocarpus* (=*Wigginsia*), *Neonotocactus*, *Notocactus sensu stricto* (*s.s.*) e as parodias brasileiras. A partir desse ponto, a fim de facilitar a leitura, apenas *Notocactus s.s*. será discriminado ao longo do texto.
[3] O autor também utiliza os nomes ilegítimos de *Acanthocephala* e *Eriocephala*.
[4] *Parodia s.l.* engloba *Notocactus s.l.* e *Parodia s.s*. A partir desse ponto, a fim de facilitar a leitura, apenas *Parodia s.s*. será discriminado ao longo do texto.

total (Nyffeler 1999). A alternativa escolhida pelos membros da IOS não surpreendeu: todos os antigos gêneros permaneceram reunidos em *Parodia* (Hunt 1999b), mesmo com a afirmação de que *Acanthocephala*, *Brasiliparodia* e *Eriocephala* não representavam parodias verdadeiras (Nyffeler 1999). Em 2017, embora os dados moleculares ainda permanecessem não publicados, as três alternativas foram novamente apresentadas. O autor, por sua vez, posicionou-se a favor de *Parodia*, por considerá-la a alternativa mais sustentável e menos suscetível a mudanças futuras (Nyffeler 2017). No mesmo volume dessa publicação, um texto intitulado "*Die Gattung Notocactus – es gibt sie wieder!*" (Engel 2017), que pode ser traduzido como "O gênero *Notocactus* – ele está de volta!", discute a possível revalidação de *Notocactus* (Engel 2017). Esse é apenas um dos exemplos que evidenciam que, no caso de *Parodia*, o consenso nomenclatural almejado pelos membros da IOS em 1986 ainda está longe de ser alcançado.

*Nem tudo são sementes: A flor como fonte de caracteres taxonômicos em Cactaceae*

Quando se trata da utilização de características morfológicas em questões taxonômicas em Cactaceae, como a caracterização e delimitação de gêneros, por exemplo, a semente é uma das estruturas mais valorizadas, sendo considerada uma fonte de caracteres de significativo valor taxonômico (Barthlott e Voit 1979, Barthlott e Hunt 2000). Nesse contexto, as sementes das espécies que hoje constituem o gênero *Parodia* foram amplamente investigadas, e suas características aplicadas à delimitação de grupos e espécies dentro de *Notocactus* (Buxbaum 1967, Ritter 1979, Havlicek e Matis 1984, Havlicek e Matis 1985, Glaetzle e Prestlé 1986), bem como à diferenciação entre *Notocactus* de *Parodia s.s*. (Buxbaum 1967).

Embora receba menos destaque do que as sementes, a flor em Cactaceae também representa uma fonte relevante de caracteres para a taxonomia e a sistemática (Buxbaum 1967). Em *Parodia*, por exemplo, o uso de caracteres da semente esteve, na maioria das vezes, associado a caracteres florais. A retirada de espécies de *Notocactus s.s*. por Backeberg (1938) e sua transferência para o novo gênero *Acanthocephala*, por exemplo, foi justificada por diferenças florais entre os dois grupos. Este último apresentava flores pequenas, com tubo floral curto e pericarpelo espinhoso, que, segundo a interpretação do autor, se distinguiam das flores de todos os demais cactos esféricos da América do Sul (Backeberg 1977). O autor também utilizou características do tubo floral e do estigma para diferenciar o novo gênero *Eriocephala* de *Notocactus s.s*. (Backeberg 1966, 1977).

Nas descrições e diferenciação dos novos subgêneros de *Notocactus*, Buxbaum (1967) recorreu amplamente às características florais, com ênfase no hipanto, na forma da flor e na composição das aréolas. Além disso, o autor utilizou uma característica floral específica para distinguir *Notocactus* e *Parodia s.s.*: a divisão dos estames em dois grupos, observada apenas em *Notocactus*. Mais tarde, a morfologia floral é utilizada para questionar a criação de *Notocactus* (Ritter 1979) e, posteriormente, de *Parodia* (Gerloff e Neduchall 2004, Van Vliet 2014). Dessa forma, conclui-se que a flor e a semente de *Parodia* compartilham duas características relevantes: (1) são potenciais fontes de caracteres taxonômicos e (2) ainda carecem de estudos que abordem sua estrutura interna.

A carência de estudos anatômicos florais estende-se à grande maioria dos gêneros de Cactaceae. Embora haja uma quantidade considerável de trabalhos que analisaram anatomicamente as flores da família (Tabela 1), o número de gêneros amostrados ainda é limitado, contemplando aproximadamente 30 dos cerca de 130 gêneros reconhecidos (Tabela 1). Em nível de espécie, esse número é ainda menor, limitando-se a apenas cerca de 70 das 1880 espécies estimadas para Cactaceae (Tabela 1). Além da baixa cobertura taxonômica, em muitos dos casos o foco do estudo é limitado, ou seja, apenas partes específicas, como androceu ou gineceu, são descritos. Em outros casos, as descrições anatômicas são consideravelmente breves, o que dificulta comparações entre espécies e gêneros. Embora a flor seja uma fonte potencial de caracteres taxonômicos, poucos trabalhos utilizaram suas características em discussões dessa natureza (Da Silva 2020, Fernández *et al*. 2020). Nesses casos, foram aplicadas em comparações entre espécies semelhantes e/ou pertencentes ao mesmo gênero características observadas no perigônio (como a distinção entre tépalas externas e internas), no gineceu (como a caracterização da epiderme, do parênquima e do tecido de transmissão do tubo polínico do estilete e estigma; da parede, do parênquima e dos feixes vasculares do ovário) e no pericarpelo (incluindo a caracterização da epiderme, do parênquima, dos feixes vasculares e a delimitação do limite entre pericarpelo e ovário).

**Tabela 1**. Relação de gêneros e espécies com dados anatômicos florais disponíveis na literatura e suas respectivas referências.

| Referência | Gênero | Espécie | Subfamília |
|---|---|---|---|
| Apolonio (2022) | *Schlumbergera* | *S. truncata* | Cactoideae |
| Boke (1963) | *Pereskia* | *P. pititache* | Pereskioideae |
| Boke (1966) | *Pereskia* | *P. aculeata* | Pereskioideae |
| Boke (1968) | *Pereskia* | *P. diaz-romeroana* | Pereskioideae |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Castillo (2009) | *Stenocereus* | *S. alamosensis* | Cactoideae |
| Cho e Ding (2021) | *Hylocereus* | *H. polyrhizus* | Cactoideae |
| Cota-Sánchez *et al*. (2023) | *Opuntia* | *O. polyacantha* | Opuntioideae |
| Da Silva (2020) | *Cereus* | *C. fernambucensis* | Cactoideae |
| | | *C. hildmannianus* | Cactoideae |
| De Almeida *et al*. (2010) | *Epiphyllum* | *E. phyllanthus* | Cactoideae |
| Delbón *et al*. (2024) | *Gymnocalycium* | *G. bruchii* | Cactoideae |
| Fernández *et al*. (2020) | *Trichocereus* | *T. candicans* | Cactoideae |
| | | *T. pseudocandicans* | Cactoideae |
| Figueroa *et al.* (2024) | *Mammillaria* | *M. lasiacantha* | Cactoideae |
| Fuentes-Pérez (2004) | *Escontria* | *E. chiotilla* | Cactoideae |
| | *Lophocereus* | *L. schottii* | Cactoideae |
| | *Myrtillocactus* | *M. geometrizans* | Cactoideae |
| | *Neobuxbaumia* | *N. mezcalaensis* | Cactoideae |
| | *Pachycereus* | *P. pecten-aboriginum* | Cactoideae |
| | *Polaskia* | *P. chichipe* | Cactoideae |
| | *Stenocereus* | *S. pruinosus* | Cactoideae |
| Fuentes-Pérez (2008) | *Cylindropuntia* | *C. imbricata* | Opuntioideae |
| | *Maihuenia* | *M. patagonica* | Maihuenioideae |
| | | *M. poeppigii* | Maihuenioideae |
| | *Maihueniopsis* | *M. clavarioides* | Opuntioideae |
| | | *M. darwinii* | Opuntioideae |
| | *Nopalea* | *N. dejecta* | Opuntioideae |
| | *Opuntia* | *O. cantabrigiensis* | Opuntioideae |
| | | *O. pilifera* | Opuntioideae |
| | | *O. pubescens* | Opuntioideae |
| | *Pereskiopsis* | *P. diguetii* | Opuntioideae |
| | *Pterocactus* | *P. araucanus* | Opuntioideae |
| | | *P. fischeri* | Opuntioideae |
| | *Tephrocactus* | *T. aoracanthus* | Opuntioideae |
| | | *T. geometricus* | Opuntioideae |
| | *Tunilla* | *T. corrugata* | Opuntioideae |
| Fuentes-Pérez *et al*. (2009) | *Opuntia* | *O. cantabrigiensis* | Opuntioideae |
| | | *O. decumbens* | Opuntioideae |
| | | *O. pilifera* | Opuntioideae |
| | | *O. pubescens* | Opuntioideae |
| | | *O. stenopetala* | Opuntioideae |
| González (2019) | *Echinopsis* | *E. ancistrophora* | Cactoideae |
| | | *E. atacamensis* | Cactoideae |
| | | *E. aurea* | Cactoideae |
| | | *E. haematantha* | Cactoideae |
| | | *E. terscheckii* | Cactoideae |
| | | *E. thionantha* | Cactoideae |
| | | *E. tubiflora* | Cactoideae |
| González *et al*. (2023) | *Cleistocactus* | *C. baumannii* | Cactoideae |
| | | *C. hyalacanthus* | Cactoideae |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | *C. smaragdiflorus* | Cactoideae |
| | *Denmoza* | *D. rhodacantha* | Cactoideae |
| | *Echinopsis* | *E. ancistrophora* | Cactoideae |
| | | *E. atacamensis* | Cactoideae |
| | | *E. aurea* | Cactoideae |
| | | *E. haematantha* | Cactoideae |
| | | *E. schickendantzii* | Cactoideae |
| | | *E. terscheckii* | Cactoideae |
| | | *E. thionantha* | Cactoideae |
| | | *E. tubiflora* | Cactoideae |
| | *Gymnocalycium* | *G. saglionis* | Cactoideae |
| | | *G. schickendantzii* | Cactoideae |
| | | *G. spegazzinii* | Cactoideae |
| | *Harrisia* | *H. pomanensis* | Cactoideae |
| | *Parodia* | *P. microsperma* | Cactoideae |
| | *Stetsonia* | *S. coryne* | Cactoideae |
| Hernández-Cruz *et al*. (2019) | *Opuntia* | *O. robusta* | Opuntioideae |
| Martins (2022) | *Tacinga* | *T. braunii* | Opuntioideae |
| | | *T. funalis* | Opuntioideae |
| | | *T. inamoena* | Opuntioideae |
| | | *T. palmadora* | Opuntioideae |
| | | *T. subcylindrica* | Opuntioideae |
| Núñez-Mariel (2004) | *Myrtillocactus* | *M. geometrizans* | Cactoideae |
| | *Pachycereus* | *P. fulviceps* | Cactoideae |
| | | *P. gaumeri* | Cactoideae |
| | | *P. militaris* | Cactoideae |
| | | *P. pringlei* | Cactoideae |
| Núñez-Mariel *et al*. (2001) | *Pachycereus* | *P. militaris* | Cactoideae |
| Pérez (2023) | *Gymnocalycium* | *G. saglionis* | Cactoideae |
| | | *G. schickendantzii* | Cactoideae |
| | | *G. schroederianum* | Cactoideae |
| | | *G. spegazzinii* | Cactoideae |
| Strittmatter *et al*. (2002) | *Consolea* | *C. spinosissima* | Opuntioideae |
| Villalpando-Martínez *et al*. (2020) | *Echinocereus* | *E. coccineus* | Cactoideae |
| | | *E. stramineus* | Cactoideae |

Além de sua estrutura, os processos embriológicos que ocorrem no interior da flor – mais especificamente no ovário – também apresentam relevância taxonômica. O estudo desses processos possibilita a compreensão dos mecanismos reprodutivos e contribui com a resolução de problemas taxonômicos em diferentes níveis hierárquicos, por meio do uso de caracteres embriológicos (Cronquist 1988, Stuessy 1990). Entre esses caracteres, destacam-se o número de células arquesporiais e de células-mãe de megásporo, a localização do megásporo funcional, o padrão de desenvolvimento do saco embrionário,

a curvatura do rudimento seminal e do nucelo, a espessura do nucelo (crassinucelado ou tenuinucelado), entre outros (Flores 1976, Herr 1984, Tobe 1989, Hernández-Garcia 1991, De Toni e Mariath 2008, De Toni e Mariath 2010). Embora Cactaceae apresente uma delimitação problemática de seus gêneros e espécies (Judd *et al*. 2009), sua embriologia ainda é pouco explorada e considerada fragmentada (Flores e Engleman 1976, Núñez-Mariel *et al*. 2001). Nas últimas décadas, poucos trabalhos descreveram processos embriológicos na família (Núñez-Mariel *et al*. 2001, Strittmatter 2002, Jiménez-Durán *et al*. 2014, Sánchez e Vázquez-Santana 2018). No caso de *Parodia*, apenas os rudimentos seminais foram analisados, revelando características variantes entre os antigos gêneros – como a presença de projeção nucelar e a mudança do tipo de micrópila, observada apenas em representantes de *Parodia s.s*. – e entre espécies consideradas sinônimos, que apresentaram variações nos tegumentos, no formato geral do rudimento seminal e em processos embriológicos, como a projeção nucelar e mudança do tipo de micrópila (Gentz *et al*. 2023). A embriologia do gênero, no entanto, assim como sua anatomia floral, permanece inexplorada.

Considerando o exposto, a busca por dados anatômicos relacionados a estruturas e processos sabidamente valiosos do ponto de vista taxonômico pode contribuir com as discussões sobre a circunscrição de *Parodia*, fornecendo caracteres que podem fortalecer ou enfraquecer determinados posicionamentos. Além disso, dados referentes à anatomia floral e aos processos de megasporogênese e megagametogênese no gênero podem trazer contribuições inéditas para duas áreas ainda pouco exploradas na família, enriquecendo o conhecimento acerca de Cactaceae.

## Referências bibliográficas


Anceschi G, Magli A. A synopsis of the genus *Parodia* Spegazzini *s.l.* (Cactaceae). *Bradleya* 2018;**36**:70–161.

Anderson EF. *The cactus family*. Portland: Timber Press, 2001.

Apolonio VR. *Morfo-anatomia da flor do cacto epífito Schlumbergera truncata (Haw.) Moran (Rhipsalidae: Cactaceae), com ênfase na ontogenia do nectário floral*. Tese, Universidade Estadual Paulista, 2022.

Backeberg C. *Cactaceae: Ergebnisse und Probleme der Kakteenforschung*. Berlin: Selbstverlag, 1942.

Backeberg C. *Cactus Lexicon: Enumeratio diagnostica Cactacearum*. Poole: Blandford Press, 1977.

Backeberg C. *Das Kakteenlexikon: Enumeratio Diagnostica Cactacearum*. Stuttgart: Gustav Fischer, 1966.

Backeberg C. Zur Systematische Übersichtsarbeit. *Blätter für Kakteenforschung* 1938;**6**:1–8.

Bárcenas R, Yesson C, Hawkins J. Molecular systematics of the Cactaceae. *Cladistics* 2011;**27**:470–489.

Barthlott W, Hunt DR. Cactaceae. In: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. *Flowering plants: dicotyledons. The families and genera of vascular plants*, vol. 2. Berlin, Heidelberg: Springer, 1993.

Barthlott W, Hunt DR. Seed-diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succulent Plant Research* 2000;**5**:1–176.

Barthlott W, Voit G. Mikromorphologie der Samenschalen und Taxonomie der Cactaceae: Ein raster-elektronenmikroskopischer Überblick. *Plant Systematics and Evolution* 1979;**132**:205–229.

Berger A. *Illustrierte Handbücher sukkulenter Pflanzen: Kakteen*. Stuttgart: Eugen Ulmer, 1929.

Boke NH. Anatomy and development of the flower and fruit of *Pereskia pititache*. *American Journal of Botany* 1963;**50**:843–858.

Boke NH. Ontogeny and structure of the flower and fruit of *Pereskia aculeata*. *American Journal of Botany* 1966;**53**:534–542.

Boke NH. Structure and development of the flower and fruit of *Pereskia diaz-romeroana*. *American Journal of Botany* 1968;**55**:1254–1260.

Britton NL, Rose JN. *The Cactaceae*. Washington: Carnegie Institution of Washington, 1922.

Buxbaum F. *Morphology of Cacti: Section I. Roots and Stems*. [S.l.]: Abbey Garden Press, 1950.

Buxbaum, F. Gattung *Notocactus*. In: Krainz H, (ed.), *Die Kakteen*. Stuttgart: Frankh'sche Verlagsbunchhandlung, 1967.

Carneiro AM, Farias-Singer R, Ramos RA, *et al*. *Cactos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2016.

Castillo JU. Anatomía de las estructuras reproductivas de *Stenocereus alamosensis* (J.M. Coult.) A.C. Gibson Y K.E. Horak (Cactaceae). Tese, Colegio de Postgraduados, 2009.

Cho JLY, Ding P. Floral morphology and pollination process of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) grown in an open field. *Horticultural Science and Technology* 2021;**39**:277–293.

Cota-Sánchez JH, Falconer DJ, De Almeida OJG *et al*. Synchrotron micro-computed tomography unveils the three-dimensional structure and origin of staminodes in the Plains Prickly Pear Cactus *Opuntia polyacantha* Haw. (Cactaceae). *Protoplasma* 2023;**260**:1303–1312

Cronquist A. *The evolution and classification of flowering plants*. 2nd ed. New York: Columbia University Press, 1988.

Da Silva MJ. *Anatomia comparada dos órgãos florais de Cereus fernambucensis Lem. e Cereus hildmannianus K. Schum. (Cactaceae).* Tese, Universidade Estadual Paulista, 2020.

De Almeida O, Sartori-Paoli A, De Souza L. Flower morpho-anatomy in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 2010;**81**:65–80.

De Toni KLG, Mariath JEA. Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtusa* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). *Plant Systematics and Evolution* 2008;**272**:39–48.

De Toni KLG, Mariath JEA. Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Australian Journal of Botany* 2010;**58**:70–79.

Delbón NE, Aliscioni NL, Lorenzati M *et al*. Looking for non-hermaphrodite cacti: multidisciplinary studies in *Gymnocalycium bruchii* endemic to central Argentina. *Plant Reproduction* 2024;**37**:201–214.

Doweld AB. Proposal to conserve the name *Brasilicactus* against *Acantocephala* (Cactaceae). *Taxon* 2000a;**49**:564–565.

Doweld AB. Proposal to conserve the name *Eriocactus* against *Eriocephala* (Cactaceae). Taxon 2000b;**49**:566–568.

Engel T. Die Gattung *Notocactus* – es gibt sie wieder! *Internoto* 2017;**38**(1):34–40.

Fernández G, Stiefkens L, Las Peñas ML *et al*. Morfo-anatomía de perigonio, gineceo y fruto em *Trichocereus candicans* y *T. pseudocandicans* (Cactaceae): implicancias taxonómicas y reproductivas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 2020;**55**:557–572.

Figueroa C, Prieto LJ, De La Torre S *et al*. Floral morpho-anatomy and reproductive biology of *Mammillaria lasiacantha* Engelm. (Cactaceae) at Sierra of Juárez, Chihuahua. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 2024;**26**:56–72.

Flores EM, Engleman EM. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de Cactáceas. I. Desarrollo y estructura. *Revista de Biología Tropical* 1976;**24**:199–227.

Flores EM. Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de Cactáceas. II. Caracteres de valor taxonómico. *Revista de Biología Tropical* 1976;**24**:299–321.

Frič AV. *Cacti, the coming fashion. Price list for 1928, no. 3*. 1928.

Fuentes-Pérez M, Terrazas T, Arias S. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica* 2009;**27**:89–102.

Fuentes-Pérez M. *Anatomía floral de algunas especies de la tribo Pachycereeae (Cactaceae*). Tese, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, 2004.

Fuentes-Pérez M. *Estudio comparativo de la anatomía floral en Opuntioideae K. Schum. (Cactaceae)*. Tese, Colegio de Postgraduados, 2008.

Gentz P, Gonçalves RNL, Mariath JEA. Contribution of ovule anatomy to the taxonomic context of *Parodia* Spegazzini (Cactaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 2023;**204**:359–370.

Gerloff N, Neduchal J. Taxonomische Neubearbeitung Der Gattung *Notocactus* Frič. *Internoto* 2004;**25**:1–130.

Glaetzle W, Prestlé KH. Seed morphology of the genus *Notocactus*. *Bradleya* 1986;**4**: 79–96.

González VV, Zini LM, Ortega-Baes P *et al*. Gynoecium structure and pollen tube pathway in the cactus family with emphasis on tribe Trichocereeae (Cactaceae: Cactoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 2023;**202**:166–80.

González VV. *La estructura floral en la familia Cactaceae: diversidad y evolución en la tribu Trichocereeae*. Thesis, Universidad Nacional del Nordeste, 2019.

Havlicek R, Matis J. More seed structures within the genus *Notocactus*. *British Cactus & Succulent Journal* 1985;**3**:64–68.

Havlicek R, Matis J. Some seed structures of the genus *Notocactus*. *British Cactus & Succulent Journal* 1984;**2**:2–5.

Hernández-Cruz R, Silva-Martínez J, García-Campusano F *et al*. Comparative development of staminate and pistillate flowers in the dioecious cactus *Opuntia robusta*. *Plant Reproduction* 2019;**32**:257–273.

Hernández-García G, García-Villanueva E. Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 1991;**51**:25–38.

Herr JM. Embryology and taxonomy. In: Johri BM, ed. *Embryology of angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag, 1984;647–796.

Hunt D. *CITES Cactaceae Checklist*. 2nd ed. Kew: Royal Botanic Gardens, 1999a.

Hunt D. One man's genus is another man's section. *Cactaceae Consensus Initiatives* 1999b;**7**:8.

Hunt DR, Taylor NP. The genera of Cactaceae: towards a new consensus. *Bradleya* 1986;**8**:85–106.

IUCN. *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2025-1*. Disponível em: https://www.iucnredlist.org, 2025. Acesso: 27 junho 2025.

Jiménez-Durán K, Arias-Montes S, Cortés-Palomec A, *et al*. Embryology and seed development in *Pereskia lychnidiflora* (Cactaceae). *Haseltonia* 2014;**19**:3–12.

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, *et al*. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3rd ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

Mace T. *Notocactus: a review of the genus incorporating Brasilicactus, Eriocactus and Wigginsia*. 2nd ed. Sussex: The Editorial Board & the Sussex Zone of the National Cactus & Succulent Society, 1975.

Machado MC, Nyffeler R, Eggli U, *et al*. New species of *Parodia* (Cactaceae, Notocacteae) from Rio Grande do Sul, Brazil. *Missouri Botanical Garden Press* 2008;**18**:214–219.

Martins JS. *Espécies brasileiras de Tacinga Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas*. Tese, Universidade de São Paulo, 2022.

Núñez-Mariel C, Engleman EM, Márquez-Guzmán J. Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae). *Botanical Sciences* 2001;**68**:5–13.

Núñez-Mariel CY. *Cactáceas columnares de México: estudio embriológico comparativo de cinco especies de la tribu Pachycereeae*. Tese, Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.

Nyffeler R, Eggli U. A farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. *Schumannia* 2010;**6**:109–49.

Nyffeler R. *Notocactus* versus *Parodia*: the search for a generic classification of the subtribe Notocactinae. *Cactaceae Consensus Initiatives* 1999;**7**:6–8.

Nyffeler R. Phylogenetische Klassifikation der Gattung *Notocactus*. *Internoto* 2017;**38**(1):27–33.

Pérez CB. *Caracterización marfoanatómica en diferentes aspectos de la biología reproductiva del género Gymnocalycium Pfeiff. Ex Mittler (Cactaceae)*. Tese, Universidad Nacional del Nordeste, 2023.

Pimienta-Barrios E, del Castillo RF. Reproductive biology. In: Nobel PS, ed. *Cacti: biology and uses*. Berkeley: University of California Press, 2002.

Porter DM. A new name for *Malacocarpus*. *Taxon* 1964;**13**:210–211.

Ritter F. *Kakteen in Sudamerika*. Spangenberg: Friedrich Ritter Selbstverlag, 1979.

Sánchez D, Vázquez-Santana S. Embryology of *Mammillaria dioica* (Cactaceae) reveals a new male sterility phenotype. *Flora* 2018;**241**:16–26.

Schumann KM. *Gesamtbeschreibung der Kakteen*, 1898.

Silva SR, Zappi D, Taylor N, *et al*. *Plano de ação nacional de conservação das cactáceas*. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), 2011.

Spegazzini CL. Breves notas cactológicas. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 1923;**96**:70.

Strittmatter LI, Negrón-Ortiz V, Hickey RJ. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* 2002;**89**:1373–1387.

Stuessy TF. *Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data*. New York: Columbia University Press, 1990.

Tobe H. The embryology of angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study. *The Botanical Magazine Tokyo* 1989;**102**:351–367.

Van Vliet DJ. Is there really no way to distinguish *Notocactus* from *Parodia*?. *Cactus and Succulent Journal* 2014;**86**:253–5.

Villalpando-Martínez MC, De La Torre S, Terrazas T *et al*. Floral development and anatomy of two *Echinocereus* species of Sierra de Juarez, Chihuahua, Mexico. *Botanical Sciences* 2020;**98**:545–559.

Zappi D, Taylor NP. Cactaceae in Flora e Funga do Brasil. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB1622. Acesso: 02 dezembro 2025.

## Objetivos

### Objetivo geral

- Fornecer novos dados sobre a embriologia e a estrutura interna da flor de *Parodia*, com o objetivo de contribuir com caracteres de potencial valor taxonômico que auxiliem na delimitação do gênero e, por consequência, ampliem o conhecimento sobre a embriologia e a anatomia floral de Cactaceae.

### Objetivos específicos

- Descrever o desenvolvimento do rudimento seminal e os processos de megasporogênese e megagametogênese nas espécies de *Parodia*.
- Descrever a anatomia do perigônio, do pericarpelo, do gineceu e do androceu nas espécies de *Parodia*.
- Realizar uma revisão bibliográfica sobre a anatomia floral em Cactaceae, com o objetivo de identificar caracteres que possam orientar futuros estudos e, assim, contribuir para a expansão do conhecimento sobre a anatomia floral da família.
- Comparar os dados obtidos entre as espécies representantes dos antigos gêneros agregados em *Parodia*, com o intuito de explorar o potencial taxonômico desses caracteres e sua possível aplicação nas diferentes circunscrições já propostas para o gênero.

# Capítulo I

**Novelties in the embryology of *Parodia* (Cactaceae) and its potential application to the genus taxonomy**

Artigo publicado no periódico **Annals of Botany** (https://doi.org/10.1093/aob/mcaf040)

ORIGINAL ARTICLE

# Novelties in the embryology of *Parodia* (Cactaceae) and its potential application to the genus taxonomy

**Patrícia Gentz[1*] and Jorge Ernesto de Araujo Mariath[1]**

[1]Department of Botany, Institute of Biosciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

RUNNING TITLE

Novelties in the embryology of *Parodia* (Cactaceae)

*For correspondence. E-mail: patigentz@gmail.com

ABSTRACT

- **Background and Aims** The problem related to the circumscription of *Parodia* originates in the classification of *Acanthocephala*, *Eriocephala*, and *Wigginsia* as subgenera of *Notocactus sensu lato*, and continues after the merger of *Notocactus sensu lato* with *Parodia sensu stricto*, which originated *Parodia sensu lato*. Embryological data was not considered in the decisions leading to the circumscription of *Parodia sensu lato*, but recent studies have demonstrated its potential applicability in discussions involving the genus. Therefore, this study aimed to describe embryological data related to ovule development and the processes of megasporogenesis and megagametogenesis, and to apply them to existing circumscriptions.
- **Methods** Floral buds at different stages of development and pre-anthesis flowers from six *Parodia* species were analysed. For sample processing, standard techniques used in anatomical studies were employed. The material was analysed and photographed under polarised light, epifluorescence microscopy, and light microscopy.
- **Key results** The analyses revealed the absence of a developmental pattern during ovule formation in *Parodia*, with species exhibiting triad or tetrad of megaspores, apomixis, mitotic division of archespores, and different mechanisms of cell selection during ovule development. The species also exhibited an atypical pattern of callose deposition during megasporogenesis, which could be considered exclusive to Cactaceae. Furthermore, one critically endangered species showed ovule malformation.
- **Conclusions** The observation of exclusive features in these species, allowed the application of the data to one of the less inclusive circumscriptions, in which

*Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus*, *Parodia*, and *Wigginsia* are considered distinct but related genera. In addition, the embryological data also demonstrated potential use as a tool in understanding the reasons that may cause the population decline of critically endangered species.

**Key words:** Apomixis, callose, plant embryology, megagametogenesis, megasporogenesis, ovule, *Parodia erinacea*, *Parodia haselbergii*, *Parodia leninghausii*, *Parodia microsperma*, *Parodia ottonis*, *Parodia rechensis*.

# INTRODUCTION

*Parodia* is a genus of cacti native to South America belonging to the tribe Notocacteae, subfamily Cactoideae (Cactaceae). Within this genus, there are 61 species found in the flat regions of the pampa biome (southern Brazil, Uruguay, north-eastern Argentina, and eastern Paraguay) and along the eastern slopes of the Andes (north-western Argentina and eastern Bolivia) (Machado *et al*., 2008; IUCN, 2023). The morphological diversity of the genus is evident in its vegetative characteristics, with globular to short cylindrical stems that have ribbed or non-ribbed tubercles bearing areoles. These areoles contain spines of various colours, shapes, and textures, which vary among species. The floral morphology also exhibits a wide range of diversity, with flowers that can range from green to red in colour, varying in shape from funnel-shaped to bell-shaped, and with areoles that may bear bristles, spines, and/or woolly trichomes (Buxbaum, 1967; Carneiro *et al*., 2016). A concerning fact for this genus is that more than half of its species are classified under one of the higher threat categories of the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of Threatened Species, where 15% of *Parodia* species are listed as critically endangered (CR), 23% as endangered (EN), and 21% as vulnerable (VU).

The issue of nominal problems has been present in the history of *Parodia* since its creation. In fact, the name of the genus emerged as a replacement for the illegitimate name *Hickenia* (Spegazzini, 1923). This name replacement not only corrected the nominal error, but also led to the creation of a list of synonyms which, over time, has grown significantly (see Anceschi and Magli, 2018). According to Anceschi and Magli (2018), *Parodia* includes 18 genera under its synonymy, of which 10 are considered illegitimate or invalid names. The remaining synonyms consist of legitimate genera that, for various reasons, ended up being synonymised under *Parodia*. Among these, some have been more

questioned than others, as in the case of *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus* and *Wigginsia*.

The debate concerning these genera originated in 1967 with Franz Buxbaum, an Austrian researcher who classified *Acanthocephala*, *Eriocephala*, and *Wigginsia* as subgenus of *Notocactus*, creating *Notocactus sensu lato* (*s.l.*). Buxbaum believed that the differences between the three genera and the type species, which he incorrectly considered to be *Echinocactus scopa*, were merely gradual and less significant than those observed in the subgenus *Neonotocactus*, which, despite considerable differences, was not separated from *Notocactus* (Buxbaum, 1967). Over a decade later, German scientist Friedrich Ritter reignited the discussion by meticulously identifying distinct characteristics in the spines, flowers, fruits, and seeds. According to Ritter, these differences were significant enough to re-establish the genera *Acanthocephala*, *Eriocephala*, *Notocactus*, and *Wigginsia*, and even create a new one called *Brasiliparodia* (Ritter, 1979). However, the characteristics identified by Ritter were not enough to keep the genera separate. Less than a decade after its publication, the International Organization for Succulent Plant Study (IOS) decided to merge *Notocactus s.l.* and *Parodia*. This fusion gave rise to *Parodia s.l.* and was justified by the lack of practical differences that could distinguish the two genera (Hunt and Taylor, 1986).

Although the circumscription of *Parodia* continues to be a topic of discussion today, few studies have sought evidence that could strengthen or weaken the union of *Acanthocephala*, *Brasiliparodia*, *Eriocephala*, *Notocactus*, and *Wigginsia* in *Parodia s.l.* (Gerloff and Neduchal, 2004; Van Vliet, 2009; Van Vliet, 2014; Gentz *et al*., 2023). Among these studies and throughout the history of the genus, only Gentz *et al*. (2023) have utilized embryological data in an attempt to contribute to resolving the problematic circumscription of *Parodia*, revealing the potential taxonomic use of such data through

the observation of characteristics that allowed the distinction between *Parodia s.s.* and *Notocactus s.l.* While this marks a significant advancement in embryological studies for the genus, the available data is limited to the anatomy of the ovule in the final stage of development. Furthermore, the stages leading up to the formation of this structure remain largely unknown, indicating a relatively unexplored and fragmented field of study within the family Cactaceae. Therefore, given the dearth of embryological research on *Parodia* and the potential usefulness of such data in resolving taxonomic issues at various hierarchical levels (Cronquist, 1988; Tobe ,1989; Stuessy, 1990), our goal was to describe the development of the ovule and the processes of megasporogenesis and megagametogenesis in this genus. Through this, we aim to expand our understanding of the embryology of *Parodia* and, in turn, enrich the embryology of Cactaceae. Additionally, we hope to identify new embryological features that can be applied to existing discussions regarding its circumscription.

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant materials*

Six species were selected for the study, each representing one of the former genera currently synonymised with *Parodia*. These include: *Parodia erinacea* (*Wigginsia*), *Parodia haselbergii* (*Acanthocephala*), *Parodia leninghausii* (*Eriocephala*), *Parodia microsperma* (*Parodia s.s.*), *Parodia ottonis* (*Notocactus s.s.*), and *Parodia rechensis* (*Brasiliparodia*). The specimens of the collected species were deposited in the ICN Herbarium of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) under the numbers 202995, 202993, 202984, 202996, 202989, and 202982, corresponding to the same order as the species listed above.

To conduct the proposed analyses, dozens of floral buds at various stages of development were collected, with a minimum of three pre-anthesis flowers for each species. At least three different individuals were sampled for each species. For each stage of the megasporogenesis and megagametogenesis processes, an average of 10 to 30 ovules per ovary were analysed. The plant materials were collected from the collection of the Porto Alegre Botanical Garden in Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS), Brazil; *Cactário Horst* in Imigrante (RS); the private property of Filipe Bernardi in Caxias do Sul (RS); and the private collection of Jones Caldas da Silva in Viamão (RS).

*Anatomical analyses under light and epifluorescence microscopy*

Upon collection, the material was fixed in a solution of 1% glutaraldehyde and 4% formaldehyde in 0.1 M phosphate buffer pH 7.2 (McDowell and Trump, 1976). The fixed material was then washed in 0.1 M phosphate buffer pH 7.2, dehydrated gradually and sequentially in ethanol, and embedded in plastic resin (hydroxyethyl methacrylate) (Johansen, 1940; Gabriel, 1982; Gerrits and Smid, 1983). After embedding, 4 µm sections were obtained using a microtome (RM2265, Leica, Nussloch, Germany) and stained with 0.1% Toluidine Blue O in 0.1 M sodium phosphate buffer pH 4.4 (Feder and O'Brien, 1968). To visualize callose during megasporogenesis, sections were stained with Aniline Blue (Smith and McCully, 1978). Starch grains in mature gametophytes were identified using polarized light.

Photomicrographs in bright field and epifluorescence were captured using a light microscope (DMR HC, Leica, Wetzlar, Germany) equipped with a digital imaging system (AxioCam, Zeiss, Germany) using the free image capture software Carl Zeiss Zen Lite 2012. A 340-380 nm excitation filter was used for capturing epifluorescence photomicrographs. Figures were created using Adobe Photoshop CC 2017 software.

*Terminologies*

The terms archesporium and archespore were used in accordance with the definitions of Pozner (2001). The ovule type classification was based on the definitions of Bocquet and Bersier (1960).

RESULTS

A summary of the distinct traits observed in the studied species is provided in Table 1. Specific details regarding the ovule development and megasporogenesis of the six studied species can be observed in Figures 1 through 6. Figure 7 illustrates the process of megagametogenesis, using *P. erinacea* as an example. Additionally, Figure 8 displays the morphology of the ovule and mature female gametophyte for the other analysed species.

*Ovule initiation*

The ovary of the six species is multi-carpellary, unilocular, and has parietal placentation. The placenta is divided into three meristematic zones: the first zone, also known as the dermal layer; the second zone, known as the subdermal layer; and the third zone, or central layer, which characterizes the *Parodia* ovule as trizonal. The initiation of the ovule primordium occurs in the third zone of the placental meristem, accompanied by the subdermal and dermal layers in its development (Figs 1A, 2A, 3A and 4A). After a brief development, the ovule primordium divides, giving rise to secondary primordia (Figs 2A, 3A and 4A), which develop into clustered ovules with branched funiculi.

At the apex of the subdermal layer in the ovule primordium, a cell stands out from the rest due to its larger size and more prominent nucleus and nucleolus (Figs 1A, 2A, 3A and 4A). This cell, known as the subdermal initial cell, undergoes periclinal division to give rise to the parietal cell and the archesporium, which characterizes the *Parodia* ovule

as crassinucellate. The archesporium may contain one or two archespores (Table 1; Figs 1B, 2B, 3B, 4B, 5A and 6A). The differentiation process of this cell causes it to stand out from the surrounding nucellar cells, with a larger size and more prominent nucleus and nucleolus. In one species, specifically *P. microsperma*, the mitotic division of one of the archespores was observed (Fig. 4B).

Upon the initiation of archesporium differentiation, the inner and outer integuments originate from the dermal layer, with the former beginning before the latter (Fig. 3B). The development of the integuments marks the archesporium stage (Figs 1B, 2B, 3B, 4B, 5A, 6A). Both integuments are predominantly composed of two layers of cells, becoming pluriestratified in the apical region as the ovule progresses in its development (Figs 1C, 2E, 3I, 4H, 5D and 6E, for example). In some cases, in the region of origin of the integuments, a third layer can be observed, which may vary in degree of development (Figs 1C, D, 2C–E, 3C and 5B–D). In all species, the ovules are classified as campylotropous due to the curvature observed in the nucellus and the region of origin of the integuments.

*Megasporogenesis*

From the division of the subdermal initial cell, three types of megasporangium development can occur in *Parodia*: the first one, where the pre-meiotic cellular differentiation (PCD), which is characterized by the increase in cell volume, dense cytoplasm and larger nucleus and nucleolus is restrict to only one cell, or archespore, and this cell differentiates into a megaspore mother cell (observed in *P. erinacea* – Fig. 1B–D, *P. haselbergii* – Fig. 2B, C, F, and *P. rechensis* – Fig. 6A, B, G); the second, where the PCD extends to one or two archespores, with both potentially developing into a megaspore mother cell in the latter case (observed in *P. microsperma* – Fig. 4B, C); and (3) the third one, where the PCD extends to two archespores, and one or both of them can

differentiate into a megaspore mother cell (observed in *P. leninghausii* – Fig. 3B, C, and *P. ottonis* – Fig. 5A, B, F, G). Note that, in the megaspore mother cell stage, the integuments are already in an advanced stage of development, in contrast to what is observed in the archesporium stage.

After completing the differentiation, the megaspore mother cell of *P. haselbergii*, *P. leninghausii*, *P. microsperma*, *P. ottonis*, and *P. rechensis* initiates meiosis I, resulting in the formation of a dyad of megaspores (Figs 2D, G, 3D, E, 4D, 5C and 6C, H). In *P. microsperma*, we observed a projection of the dyad, along with the nucellus to extend beyond the boundaries of the micropyle (Table 1; Fig. 4E, F). Both megaspores of the dyad initiate meiosis II, but only the chalazal megaspore completes it, resulting in the formation of a linear triad of megaspores in most of the mentioned species (Figs 2E, H, 3F, 4G and 5D, F, G), except in *P. rechensis* (Table 1). In this species, meiosis II occurs in both the chalazal and micropylar megaspores, leading to the formation of a linear tetrad of megaspores (Fig. 6E, J). Meiosis II can be synchronous or asynchronous, with the latter allowing for the visualization of linear triads of megaspores (Fig. 6D, I). Despite this difference, in this species, as well as in *P. haselbergii*, *P. leninghausii*, *P. microsperma*, and *P. ottonis*, the female gametophyte is monosporic in origin, with the chalazal megaspore starting the vacuolation process, resulting in the formation of two vacuoles, one at each pole of the cell, while the other megaspores undergo degeneration (Figs 2I, J and 3G, H). As a result, the chalazal megaspore becomes the functional megaspore from which the female gametophyte will develop (Figs 2J, 3I, 4H, I, 5E and 6F).

This particular development pattern described does not apply to *P. erinacea*, the only apomictic species among the six studied (Fig. 1). In this species, the archespore directly differentiates into a megaspore mother cell (Fig. 1B–D), which does not initiate meiotic division and, as result, does not give rise to megaspores. This results in a

longitudinal elongation of the cell, with the formation of small vacuoles that later accumulate polysaccharides and merge, forming two larger vacuoles, one at each pole of the megaspore mother cell (Fig. 1C–G).

In all studied species, the callose deposition was not observed on the walls of the megaspore mother cell, dyad, triad, or tetrad. Callose was only observed, although in low quantities, inside the megaspores that undergo degeneration, and subsequently, in the degenerated megaspores (Fig. 6G–K). The accumulation of this substance begins in the triad phase, and is barely noticeable due to its low concentration (Fig. 6I). As the megaspores develop, the concentration gradually increases (Fig. 6J). A significant concentration is only observed when both megaspores, or three in the case of *P. rechensis*, are degenerated, and the chalazal megaspore is established as the functional megaspore (Fig. 6K).

*Megagametogenesis*

The process of megagametogenesis follows a similar pattern in all six species analysed; therefore, we used *P. erinacea* as an illustrative model (Fig. 7). Starting from the functional megaspore in most species and the megaspore mother cell in *P. erinacea*, three successive mitotic divisions without cytokinesis give rise to two (Fig. 7A), four (Fig. 7C), and eight nuclei (Fig. 7D–F), which are haploid in *P. haselbergii, P. leninghausii*, *P. microsperma*, *P. ottonis*, and *P. rechensis*, and diploid in *P. erinacea*. Once formed, the nuclei occupy the pole region of the gametophyte, evenly distributed and separated by a central vacuole containing polysaccharides (Fig. 7D–F). The development of the gametophyte is accompanied by the degeneration of surrounding nucellar cells (Fig. 7A–D, F).

After cytokinesis and cellular differentiation, the gametophyte of the *Polygonum* type is composed of seven cells and eight nuclei: three antipodes located at the chalazal pole; two synergid cells and one oosphere, which together form the oospheric apparatus at the micropylar pole; and a central cell, which may have either two polar nuclei (Fig. 7G, H) or a single secondary nucleus formed after the fusion of polar nuclei (Fig. 8A–F). In *P. leninghausii* and *P. rechensis*, the antipodal cells are ephemeral and begin to degenerate before floral anthesis (Table 1; Fig. 8B, F). All species exhibit mature gametophytes containing starch grains in their interior (Figs 7I and 8G–K).

*The ovule malformation in P. rechensis*

In *P. rechensis*, the structure of the ovule may be partially or completely affected during its formation and development (Fig. 9). Approximately half of the examined ovaries showed some deformities, such as compromise of the ovary wall resulting in loose cells and abnormal intercellular spaces (Fig. 9A), malformation of the coverings with the ovules outer integument consisting of only one layer of cells and subsequent malformation of the micropyle, and degeneration of the funiculus and chalaza cells (Fig. 9B–D).

## DISCUSSION

*Embryological aspects of Parodia*

There is limited knowledge on the initiation process of the ovule in Cactaceae. Most studies focus on later stages of development or mature structures (Engleman, 1960; Flores and Engleman, 1976; Hernández-García and García-Villanueva, 1991; Fuentes-Pérez *et al*., 2009; De Almeida *et al*., 2010; Cisneros *et al*., 2011; Jiménez-Durán *et al*., 2014; Camacho-Velázquez, 2018; Gentz *et al*., 2023; González *et al*., 2023). In the genus *Parodia*, the ovules in all six species exhibit three distinct layers, with cell divisions

primarily occurring in the central layer in a periclinal manner, while the subdermal and dermal layers follow suit in an anticlinal direction. These subdermal and dermal layers play a crucial role in ovule development, with the former being the site of differentiation for the archesporial initial cell, which will eventually divide to form the parietal cell and the archesporium, and the latter responsible for the formation of both internal and external integuments. A similar ovule development pattern has been observed in various flowering plant families (Bouman, 1984). Among the Cactaceae family, only *Pachycereus militaris* (Audot) D.R.Hunt has been studied regarding the origin of its integuments, which were also determined to be dermal in nature (Núñez-Mariel *et al*., 2001). However, the origin of ovule primordia in this family has not yet been investigated. In Cactaceae, only a small fraction of studies involving ovules have focused on early stages, with most beginning their analyses from the archesporial stage (Engleman, 1960; Núñez-Mariel *et al*., 2001; Strittmatter *et al*., 2002; Hernández-Cruz *et al*., 2019), a developmental phase during which some information about ovule initiation has already been lost.

The presence of an archesporium with one or more archespores in Cactaceae has already been reported (Engleman, 1960; Johri *et al*., 1992; Núñez-Mariel *et al*., 2001; Strittmatter *et al*., 2002). In *P. microsperma*, one of the species with a bicellular archesporium, we observed that the archespores have the ability to undergo mitotic division (Fig. 4B), a rare event in megasporangia (Pozner, 2001). In the present study, the term archesporium is used according to the definition of Pozner (2001), which defines archesporium as a cell or group of cells that undergoes PCD, and gives rise, either wholly or partially, to the meiotic tissue. The cell, or cells, that make up the archesporium are referred to as archespore. An archespore can be distinguished from the surrounding cells by its larger cell volume, dense cytoplasm, and larger nucleus and nucleolus, which indicate PCD and the potential formation of meiotic tissue or megaspore mother cell.

However, the occurrence of PCD does not always guarantee the formation of such tissue, as it can occur in both a pre-mitotic and pre-meiotic interphase. It is only during the G2 phase of meiosis I that a cell commits to the meiotic cycle and is considered a megaspore mother cell, which can be identified from prophase I onwards (Pozner, 2001).

Two phenomena are related to PCD: the extension phenomenon and the gradient phenomenon. The extension phenomenon is directly linked to the number of archespores expressing PCD, while the gradient phenomenon relates to the synchrony, or lack thereof, of PCD in developing archespores. Both phenomena can also be applied to meiosis and follow the same logic. However, the gradient phenomenon in both PCD expression and meiosis only occurs if the archesporium consists of more than one archespores. Therefore, in an archesporium where PCD extends to more than one archespore, it is possible for some of them to exhibit a more pronounced differentiation than others, demonstrating asynchrony due to the presence of a PCD gradient. Alternatively, all cells may begin and continue PCD synchronously, thanks to the absence of a gradient. The extension and gradient of PCD and meiosis are of great importance in ovule development (Pozner, 2001). According to Pozner (2001), these phenomena act as mechanisms of cellular selection, serving as (1) premeiotic selection mechanisms, (2) meiotic selection mechanisms, and (3) postmeiotic selection mechanisms.

In *Parodia*, the three selection mechanisms can be found. In the genus, the archesporium has been shown to be a complex structure, with PCD extending to one or two cells in the studied species. These species do not exhibit a PCD gradient and may or may not present a meiosis gradient (Table 1). Out of the six studied species, three exhibit only the pre-meiotic selection mechanism, which are *P. erinacea*, *P. haselbergii*, and *P. rechensis*. In these species, PCD acts as a selection mechanism by extending to a single cell from the beginning, preventing the development of other archespores (Figs 1B, 2B

and 6A); there is no meiosis gradient. In *P. microsperma*, the selection mechanism can also be pre-meiotic. However, in some cases, the meiotic selection mechanism is observed. In this case, two archespores may occur and both can develop and differentiate into megaspore mother cells (Fig. 4C), but only one will complete meiosis (Fig. 4C–H); meiosis gradient was observed (Fig. 4C). On the other hand, in *P. leninghausii* and *P. ottonis*, more than one megaspore mother cell may develop, as both species exhibit post-meiotic selection mechanisms. Meiosis can be completed in more than one cell in both species, but in *P. leninghausii*, the phenomenon of meiotic gradient does not occur, and the development of two gametophytes in the same ovule was not observed. In contrast, in *P. ottonis*, both the meiotic gradient phenomenon and the development of more than one gametophyte in the same ovule can be observed (Fig. 5F, G). In both species, the pre-meiotic selection mechanism can also occur, which prevents the two archespores from always developing into megaspore mother cells.

Despite variations in PCD extent, meiotic gradient, and types of cell selection mechanisms, the majority of *Parodia* species exhibit the formation of a megaspore triad after meiosis (Table 1; Figs 2E, H, 3F, 4G, 5D). In these species, the chalazal cell of the megaspore dyad initiates meiosis II before the micropylar cell (Fig. 2G, 4F); the former completes meiosis II and produces two megaspores, while the latter only begins but does not finish it (Fig. 5D). This demonstrates that the formation of the megaspore triad in *Parodia* is due to the suppression of the meiosis II in the micropylar megaspore of the dyad, rather than a lack of cytokinesis as suggested in other Cactaceae genera (Engleman, 1960; Núñez-Mariel *et al*., 2001). According to Bouman (1984), this suppression of meiosis in the micropylar cell of the dyad is considered an additional reduction trend to the reduction of megaspore numbers. However, in *P. rechensis*, this suppression does not occur, resulting in a tetrad of megaspores after the two phases of meiosis (Fig. 6G–J).

Meanwhile the suppression of meiosis may occur only in the micropylar megaspore of the dyad or not at all in the other species, in *P. erinacea* the meiotic suppression is complete (Fig. 1), making it an apomictic species, meaning it reproduces through apomixis. As defined by Nogler (1984), apomixis is "asexual reproduction through seeds", resulting in a progeny genetically identical to the mother plant. The embryo, which will become the future sporophyte, can develop within a female gametophyte (gametophytic apomixis - apospory or diplospory) or from a somatic cell of the ovule (sporophytic apomixis) (Koltunow, 1993; Cornaro *et al*., 2023). In diplosporic gametophytic apomixis, a generative cell, such as the megaspore mother cell, produces a female gametophyte after three successive mitotic divisions. Meiosis in the generative cell can be initiated and later inhibited (meiotic diplospory) or not initiate at all (mitotic diplospory) (Nogler, 1984; Koltunow, 1993). Based on our observations, *P. erinacea* reproduces through mitotic diplosporic gametophytic apomixis. This is the first report of apomixis in the genus *Parodia* and the sixth report in the Cactaceae family (Hörandl, 2024). Further studies could reveal whether, as in most species with diplosporic apomixis, the male gametophyte does not contribute to the genetics of the embryo (Koltunow, 1993) or if it does contribute to the formation of the endosperm.

Another novelty for *Parodia* and, in this case, a unique report for the Cactaceae family, is the absence of callose deposition in the cell walls of cells involved in the megasporogenesis process. Callose is a specialized polysaccharide that, in certain situations, can be part of the plant cell wall composition (Chen and Kim, 2009; Ünal *et al*., 2013). During megasporogenesis, for example, the identification of callose in specific regions of the cell wall of the megaspore mother cell is common, as well as being visible during the formation of the cell plate that forms between the megaspores. Its presence in these cases is often attributed to cellular isolation, so that the cells related to

megasporogenesis can undergo independent and distinct development from surrounding cells (Rodkiewicz, 1970; Bouman, 1984; Ünal *et al*., 2013). However, in *Parodia*, during the entire process of megasporogenesis, callose is not observed as a constituent of the cell wall (Fig. 6G–H). Instead, what is observed is the simple presence of this substance inside the megaspore triad or tetrads (Fig. 6I, J), reaching its highest concentration when the megaspores degenerate (Fig. 6K). Thus, although further studies are necessary, it can be inferred that, in *Parodia*, callose is not related to cellular isolation. Considering that the megaspore that will become functional does not have any traces of this substance at any point during megasporogenesis, the presence of callose in this genus seems to be more related to the degeneration of non-functional megaspores. Additional studies must be carried out to confirm this hypothesis.

*The use of embryological characters in the taxonomic context of Parodia*

One of the motivations for studying the ovule initiation and processes of megasporogenesis and megagametogenesis in *Parodia* was to identify embryological characteristics that could be applied in the taxonomic context of the genus. The megagametogenesis phase of ovule development has shown the most consistency, making it less relevant for the proposed taxonomic approach. This is because the female gametophyte, which follows the *Polygonum* type and is formed by seven cells after three consecutive mitoses, is not only found in the six species studied, but also in the majority of angiosperms, making it a basic type of development (Willemse and Van Went, 1984). Therefore, it can be concluded that the most significant embryological characteristics for the discussion surrounding the circumscription of *Parodia* are observed earlier and throughout the process of megasporogenesis. However, even during these moments, as well as during megagametogenesis, the species also share certain characteristics. The presence of morphological similarities between species of the former genera, now

considered synonyms of *Parodia*, was previously mentioned by Buxbaum (1967). In this case, the author argued for the distinction between *Notocactus s.l.* and *Parodia s.s.*, and attributed the convergence of certain characteristics as evidence of their common origin. Furthermore, many of the shared characteristics among the studied species are also commonly described in other angiosperms (Bouman, 1984; Willemse and Van Went, 1984; Johri *et al*., 1992).

As a result of our study, certain characteristics have demonstrated their relevance in discussing the circumscription of *Parodia*. These include (1) the mitotic division of archespores and (2) the presence of nucellar projection in *P. microsperma*, (3) the cellular selection mechanism, (4) the apomixis in *P. erinacea*, and (5) the presence of a megaspore tetrad in *P. rechensis*. In *Parodia* species, the cellular selection mechanism can be pre-meiotic, meiotic, or post-meiotic. The meiotic selection mechanism was only observed in *P. microsperma*, a species that also exhibited other unique features such as the ability for mitotic division of its archespores and nucellar projection during megasporogenesis. Similar analysis by Gentz *et al*. (2023) had previously shown that *Parodia s.s.*, which includes *P. microsperma*, stands out from other formerly grouped genera currently included in *Parodia s.l.*, due to the nucellar projection during the mature gametophyte phase and the shift from endostomic to exoendostomic micropyle. Although the cellular selection mechanism may be shared among the other species, each one presents a unique quality that sets it apart from the others. For species with only the pre-meiotic cellular selection mechanism, the distinguishing features include (1) *P. erinacea* with gametophytic apomixis of the mitotic diplospory type, (2) *P. rechensis* with the formation of a megaspore tetrad, and (3) *P. haselbergii* whose development most closely resembles the commonly described pattern for other Cactaceae genera (e.g. Engleman, 1960; Núñez-Mariel *et al*., 2001; Jiménez-Durán *et al*., 2014). As for species with a post-meiotic

cellular selection mechanism, the singularity is attributed to the presence of a gradient during meiosis and the development of two female gametophytes in *P. ottonis*, while *P. leninghausii* lacks this gradient and only develops one female gametophyte.

Thus, upon applying the data obtained from this current study to the circumscriptions related to *Parodia* (i.e. Buxbaum (1967), Ritter (1979), and Hunt and Taylor (1986)), we can observe a greater affinity with Ritter's (1979) proposed circumscription. In Kakteen in Südamerika, Ritter argues for the restoration of the genera classified as subgenera of *Notocactus s.l.* by Buxbaum (1967), re-establishing the genera *Acanthocephala*, *Eriocephala*, *Notocactus*, and *Wigginsia*, and creating the new genus *Brasiliparodia*. This action is justified by the identification of various distinct morphological characteristics among the genera, particularly in relation to the vegetative body, flowers, fruits, and seeds; not coincidentally, Ritter is considered a taxonomic splitter. Furthermore, Ritter also supported the idea of a relationship between these genera and the genus *Parodia*, but never their union in a single genus. The data presented in this study demonstrate a significant variation during ovule formation, making it difficult to establish a pattern for the genus *Parodia s.l.* It is important to note that these differences are being observed in an embryological process that, typically, is conserved and follows a pattern in well-established genera (Bouman, 1984; Johri *et al*., 1992). Additionally, this is not the first study involving embryological data in which the results align with Ritter's (1979) circumscription; in Gentz *et al*. (2023), the characteristics observed in fully developed ovules could further support the author's idea. Thus, we emphasize the need to integrate morphological and embryological data with molecular data in this case, in order to better understand the relationships and delimitations of *Parodia* and its aggregates.

*The implications of ovule malformation in P. rechensis*

The occurrence of defects and morphological changes in *P. rechensis* ovules is an important issue due to the current conservation status of the species and difficulties in *ex-situ* conservation efforts (Larocca and Machado, 2013). This species is only known to exist in two populations in Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, and is currently classified as critically endangered (CR) on the IUCN Red List (Larocca and Machado, 2013), the Red Book of Brazilian Flora (Martinelli and Moraes, 2013), and the List of Threatened Plant Species in Rio Grande do Sul (SEMA, 2014). The longer-known population, which includes the species' type specimen, currently has a maximum of only ten individuals. However, in 2021, a second population was discovered, providing hope for the future of the species (IMA, 2021). The main contributors to the species' decline include illegal collecting and habitat alteration (CNCFlora, 2012; Larocca and Machado, 2013; IMA, 2021). The latter is primarily caused by the presence of invasive exotic species such as *Pinus* L., which suffocates and shades the specimens due to leaf litter accumulation and growth habits, and wild boars, who trample the plants as they move through the areas where the species is found (N.F.Fagundes and A.D.Nilson, pers. comm. – Porto Alegre Botanical Garden). Additionally, our data suggests a potential new threat to the decline of the species: ovule malformation, the precursor to seed development.

It is widely understood that the future sporophyte develops from the embryo inside a seed. However, in order for a new sporophyte to be able to grow, the seed must be viable. To produce a viable seed, the events that occur within the ovule, such as those during megasporogenesis and megagametogenesis, must be initiated and completed without any absence or interruption of the common embryological stages of the species. If this does not happen, the seed's development can be disrupted and it may become non-viable (Koltunow, 1993). Changes in the structure of the ovule can also result in a non-viable seed, as it can hinder the pollen tube from reaching the female gametophyte in the case

of alterations in the micropylar region, or affect the formation of the seed's protective coats in the case of alterations in the ovule's integuments, which serve to protect the developing embryo.

During the study of the processes of megasporogenesis and megagametogenesis, abnormalities were observed during the formation and development of *P. rechensis* ovules. In almost half of the analysed ovaries, the ovules followed a normal development, able to form an archesporium, triads/tetrads, and gametophytes. However, at unspecified times and for unknown reasons, the structure of the ovule began to degenerate, affecting even the products of megasporogenesis and megagametogenesis that were already formed. It is important to note that such abnormalities are occurring in a species that is facing a strong population decline. Nothing similar was observed in any of the other five species studied in the present research, nor in the 15 species of *Parodia* studied in Gentz *et al*. (2023). Therefore, we believe that the malformation of ovules may also be a contributing factor to the observed decline in the species. Our hypothesis is linked to the fact that abnormal ovules do not develop, and as a consequence, no viable seeds are formed in these cases, which can lead to a decrease in the population. Conducting genetic studies and focusing on the count of viable and non-viable seeds is necessary to gain a better understanding of the reasons for the malformation of ovules in *P. rechensis* and how it may be affecting the species' populations.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, which awarded a grant to the first author, and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – Proc. 303840/2019- 6) for the research grant to the second author. We thank the staff of the Porto Alegre Botanical Garden, Ingo Horst from *Cactário Horst*, Filipe Bernardi and

Jones Caldas da Silva for providing the plant material used in this study, and Dr. Natividad Ferreira Fagundes and Ari Delmo Nilson (Porto Alegre Botanical Garden) for the help during the sample collection. PG and JEAM conceived and designed the study. JEAM provided funding. PG and JEAM collected samples in field expeditions. PG conducted the experiments and data analysis. PG wrote the manuscript and prepared the figures. JEAM reviewed the manuscript and made the English version. All authors read and approved the manuscript.

## FUNDING

This work was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001, in part by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq (grant number 303840/2019- 6), and in part by Plant Anatomy Laboratory - LAVeg own resources.

## CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.

## LITERATURE CITED

**Anceschi G, Magli A. 2018.** A synopsis of the genus *Parodia* Spegazzini *s.l.* (Cactaceae). *Bradleya* **36**: 70–161.

**Bocquet G, Bersier JD. 1960.** La valeur systématique de l'ovule: développements tératologiques. *Archives des Sciences* **13**: 475–496.

**Bouman F. 1984.** The ovule. In: **Johri BM**, ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag, 123–157.

**Buxbaum F. 1967.** Gattung *Notocactus*. In: **Krainz H**, ed. *Die Kakteen*. Stuttgart: Frankh'sche Verlagsbunchhandlung, C VI c.

**Camacho-Velázquez A, Arias S, García-Campusano F, Sánchez-Martínez E, Vázquez-Santana S. 2018.** Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study. *Flora* **242**: 89–101.

**Carneiro AM, Farias-Singer R, Ramos RA, Nilson AD. 2016.** *Cactos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul.

**Chen XY, Kim JY. 2009.** Callose synthesis in higher plants. *Plant Signaling & Behavior* **4**: 489–492.

**Cisneros A, Garcia R, Tel-Zur N. 2011.** Ovule morphology, embryogenesis and seed development in three *Hylocereus* species (Cactaceae). *Flora* **206**: 1076–1084.

**CNCFlora. 2012.** *Parodia rechensis (Buining) Brandt*. http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Parodia rechensis. (18 April 2024, date last accessed).

**Cornaro L, Banfi C, Cucinotta M, Colombo L, van Dijk PJ. 2023.** Asexual reproduction through seeds: the complex case of diplosporous apomixes. *Journal of Experimental Botany* **74**: 2462–2478.

**Cronquist A. 1988.** *The evolution and classification of flowering plants*, 2th edn. New York: New York Botanical Garden.

**De Almeida O, Sartori-Paoli A, De Souza L. 2010.** Flower morpho-anatomy in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* **81**: 65–80.

**Engleman EM. 1960.** Ovule and seed development in certain cacti. *American Journal of Botany* **47**: 460–467.

**Feder N, O'brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55**: 123–142.

**Flores EM, Engleman EM. 1976.** Apuntes sobre anatomía y morfología de las semillas de Cactáceas I Desarrollo y estructura. *Revista de Biologia Tropical* **24**: 199–227.

**Fuentes-Pérez M, Terrazas T, Arias S. 2009.** Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. *Polibotánica* **27**: 89–102.

**Gabriel BL. 1982.** *Biological Electron Microscopy*. New York: Van Nistrand Reinhold Company.

**Gentz P, Gonçalves RNL, Mariath JEA. 2023.** Contribution of ovule anatomy to the taxonomic context of *Parodia* Spegazzini (Cactaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **204**: 359–370.

**Gerloff N, Neduchal J. 2004.** Taxonomische Neubearbeitung Der Gattung *Notocactus* Frič. *Internoto* **25**: 1–130.

**Gerrits PO, Smid L. 1983.** A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial section. *Journal of Microscopy* **132**: 81–85.

**González VV, Zini LM, Ortega-Baes P, Ferrucci MS. 2023.** Gynoecium structure and pollen tube pathway in the cactus family with emphasis on tribe Trichocereeae (Cactaceae: Cactoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **202**: 166–180.

**Hernández-Cruz R, Silva-Martínez J, García-Campusano F, *et al*. 2019.** Comparative development of staminate and pistillate flowers in the dioecious cactus *Opuntia robusta*. *Plant Reproduction* **32**: 257–273.

**Hernández-García G, García-Villanueva E. 1991.** Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **51**: 25–38.

**Hörandl E. 2024.** Apomixis and the paradox of sex in plants. *Annals of Botany* **134**: 1–18.

**Hunt DR, Taylor NP. 1986.** The genera of Cactaceae: towards a new consensus. *Bradleya* **8**: 85–106.

**IMA – Instituto do Meio Ambiente de Santa Catarina. 2021.** *PAT Planalto Sul auxilia na descoberta de nova população de espécie de cactos ameaçada de extinção*. https://www.ima.sc.gov.br/index.php/noticias/1755-plano-pat-planalto-sul-auxilia-na-descoberta-de-nova-populacao-de-especie-de-cactos-ameacada-de-extincao. (18 April 2024, date last accessed).

**IUCN. 2023.** *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2023-1*. https://www.iucnredlist.org. (18 April 2024, date last accessed).

**Jiménez-Durán K, Arias-Montes S, Cortés-Palomec A, Márquez-Guzmán J. 2014.** Embryology and seed development in *Pereskia lychnidiflora* (Cactaceae). *Haseltonia* **19**: 3–12.

**Johansen DA. 1940.** *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill Company.

**Johri BM, Ambegaokar KB, Srivastava OS. 1992.** *Comparative Embryology of Angiosperms*, Vol. **1**. Berlin: Springer-Verlag.

**Koltunow AN. 1993.** Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* **5**: 1425–1437.

**Larocca J, Machado M. 2013.** *Parodia rechensis*. https://www.iucnredlist.org/es/species/151937/578426, 2013. (25 April 2024, date last accessed).

**Machado MC, Nyffeler R, Eggli U, Larocca e Silva JF. 2008.** A new Species of *Parodia* (Cactaceae, Notocacteae) from Rio Grande do Sul, Brazil. *Missouri Botanical Garden Press* **18**: 214–219.

**Martinelli G, Moraes MA. 2013.** *Livro Vermelho da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

**McDowell EM, Trump B. 1976.** Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* **100**: 405–414.

**Nogler GA. 1984.** Gametophytic apomixis. In: **Johri BM**, ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag, 475–518.

**Núñez-Mariel C, Engleman EM, Márquez-Guzmán J. 2001.** Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae). *Botanical Sciences* **68**: 5–13.

**Pozner R. 2001.** Approach to the early sporangial development in angiosperms considering meiosis control and cellular differentiation. *Plant Systematics and Evolution* **230**: 25–42.

**Ritter F. 1979.** *Kakteen in Sudamerika*. Spangenberg: Friedrich Ritter Selbstverlag.

**Rodkiewicz B. 1970.** Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. *Planta* **93**: 39–47.

**SEMA – Secretaria do Estado do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul. 2014.** *Decreto nº 52.109, de 1º de dezembro de 2014.* https://www.sema.rs.gov.br/upload/arquivos/202112/01151427-lista-da-flora-ameacada-do-rs.pdf. (25 April 2024, date last accessed).

**Smith MM, McCully ME. 1978.** A critical evaluation of the specificity of aniline blue induced fluorescence. *Protoplasma* **95**: 229–254.

**Spegazzini CL. 1923.** Breves notas cactologicas. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* **96**: 70.

**Strittmatter LI, Negrón-Ortiz V, Hickey RJ. 2002.** Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* **89**: 1373–1387.

**Stuessy TF. 1990.** *Plant Taxonomy: The Systematic Evaluation of Comparative Data*. New York: Columbia University Press.

**Tobe H. 1989.** The embryology of Angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study. *The Botanical Magazine Tokyo* **102**: 351–367.

**Ünal M, Vardar F, Aytürk Ö. 2013.** Callose in plant sexual reproduction. In: **Silva-Opps M**, ed. *Current Progress in Biological Research*. Canada: IntechOpen, 319–43.

**Van Vliet DJ. 2009.** Hoezo consensus? *Succulenta* **88**: 150–157.

**Van Vliet DJ. 2014.** Is there really no way to distinguish *Notocactus* from *Parodia*? *Cactus and Succulent Journal* **86**: 253–255.

**Willemse MTM, Van Went JL. 1984.** The female gametophyte. In: **Johri BM**, ed. *Embryology of Angiosperms*. Berlin: Springer-Verlag, 159–96.

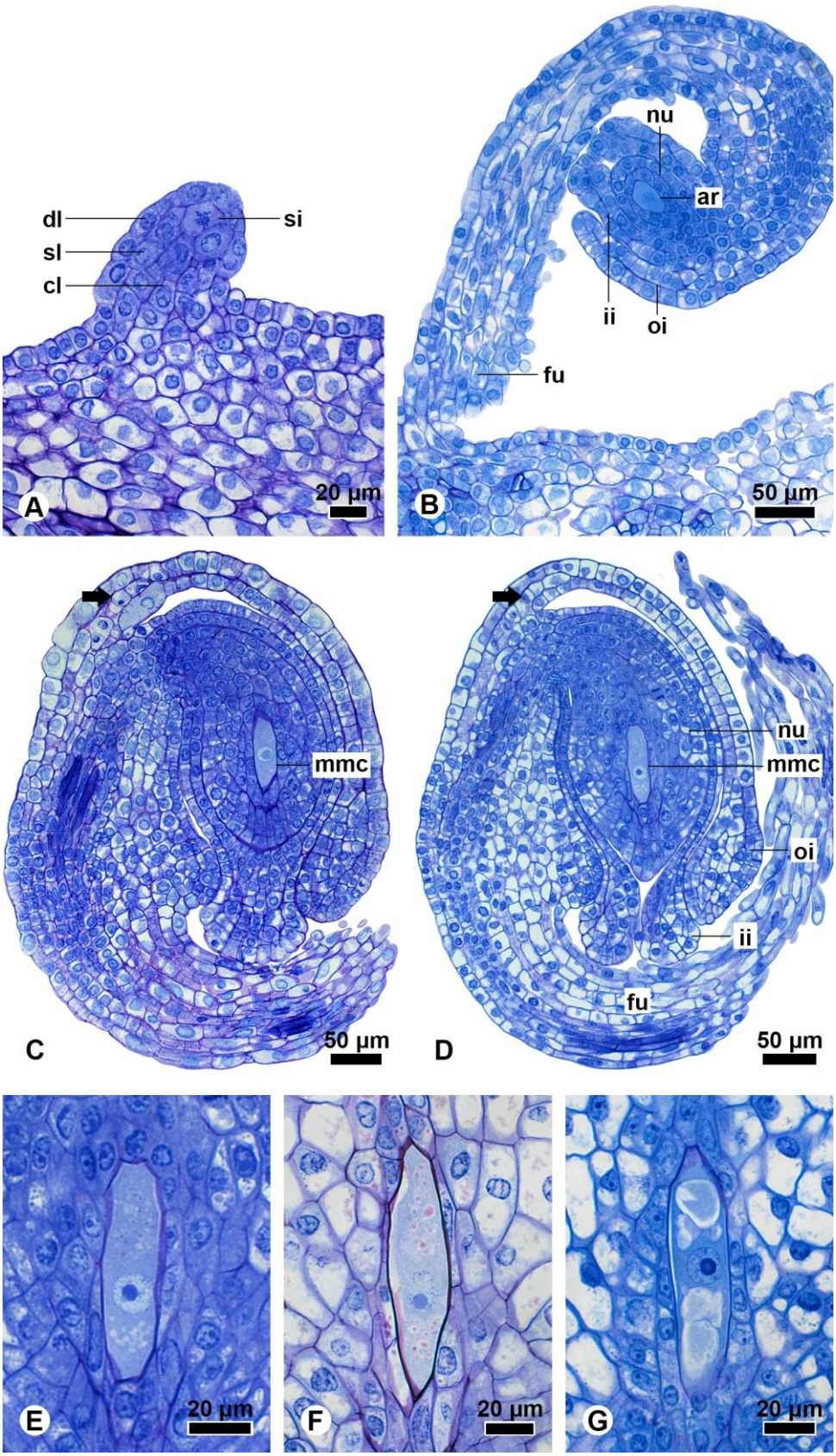



FIG. 1. Ovule development and apomeiosis process in *P. erinacea*. (A) Ovule primordium formation and subdermal initial cell differentiation. (B) Ovule in early developmental

stage, with an archesporium composed of a single archespore. (C) Ovule with a megaspore mother cell (arrow: third layer in the outer integument). (D) Elongated megaspore mother cell with small vacuoles. Compare the structural development of the ovule to that of the ovule in C (arrow: third layer in the outer integument). (E–G) Details of changes in the megaspore mother cell. (E) Formation of small vacuoles, distinguishable as white dots at the cell poles. (F) Elongation of the megaspore mother cell and filling of small vacuoles with polysaccharides. (G) Fusion of small vacuoles resulting in the formation of two single vacuoles, one at each pole of the cell, filled with polysaccharides. ar, archesporium/archespore; cl, central layer; dl, dermal layer; fu, funiculus; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; si, subdermal initial cell; sl, subdermal layer.

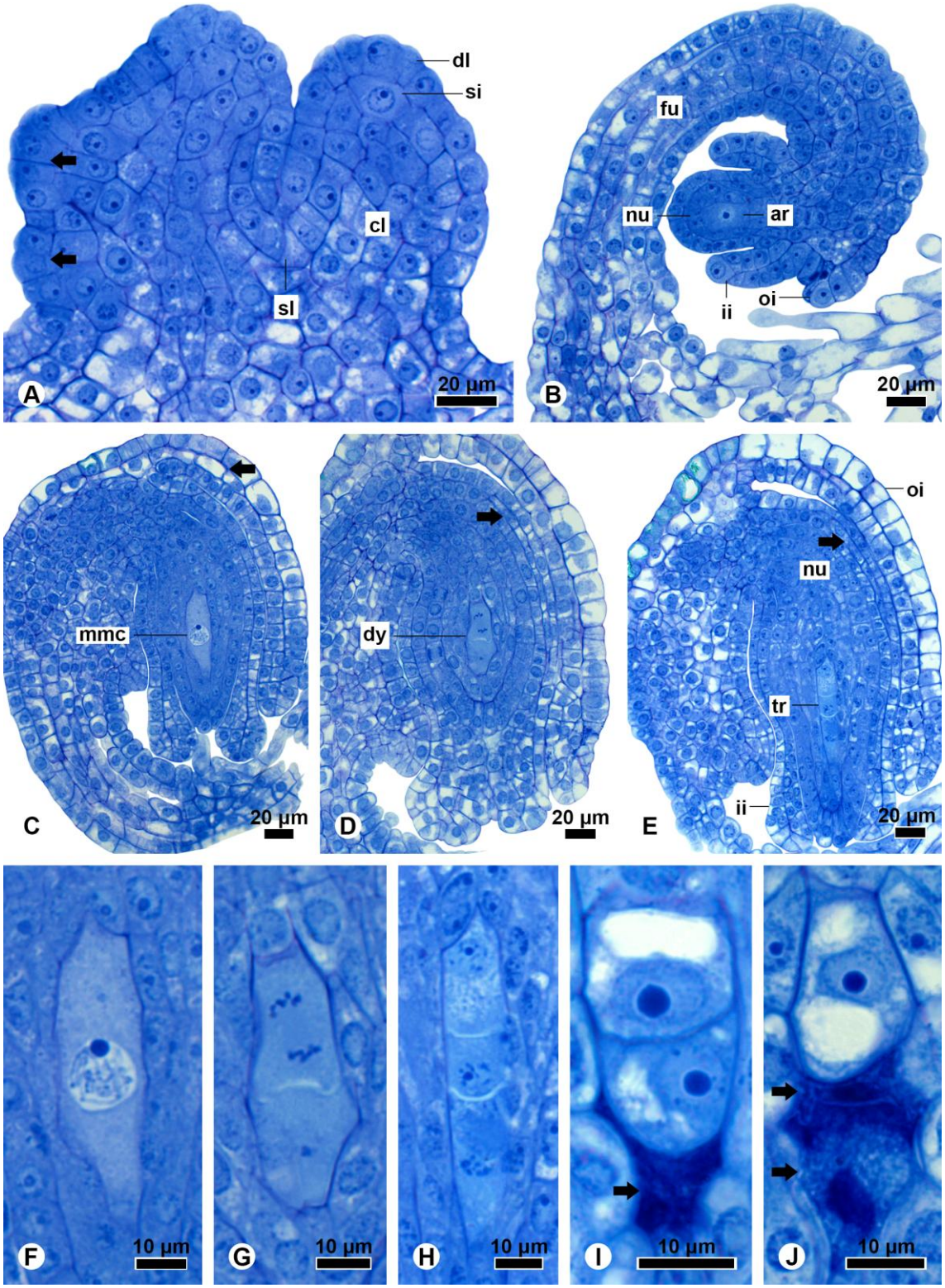
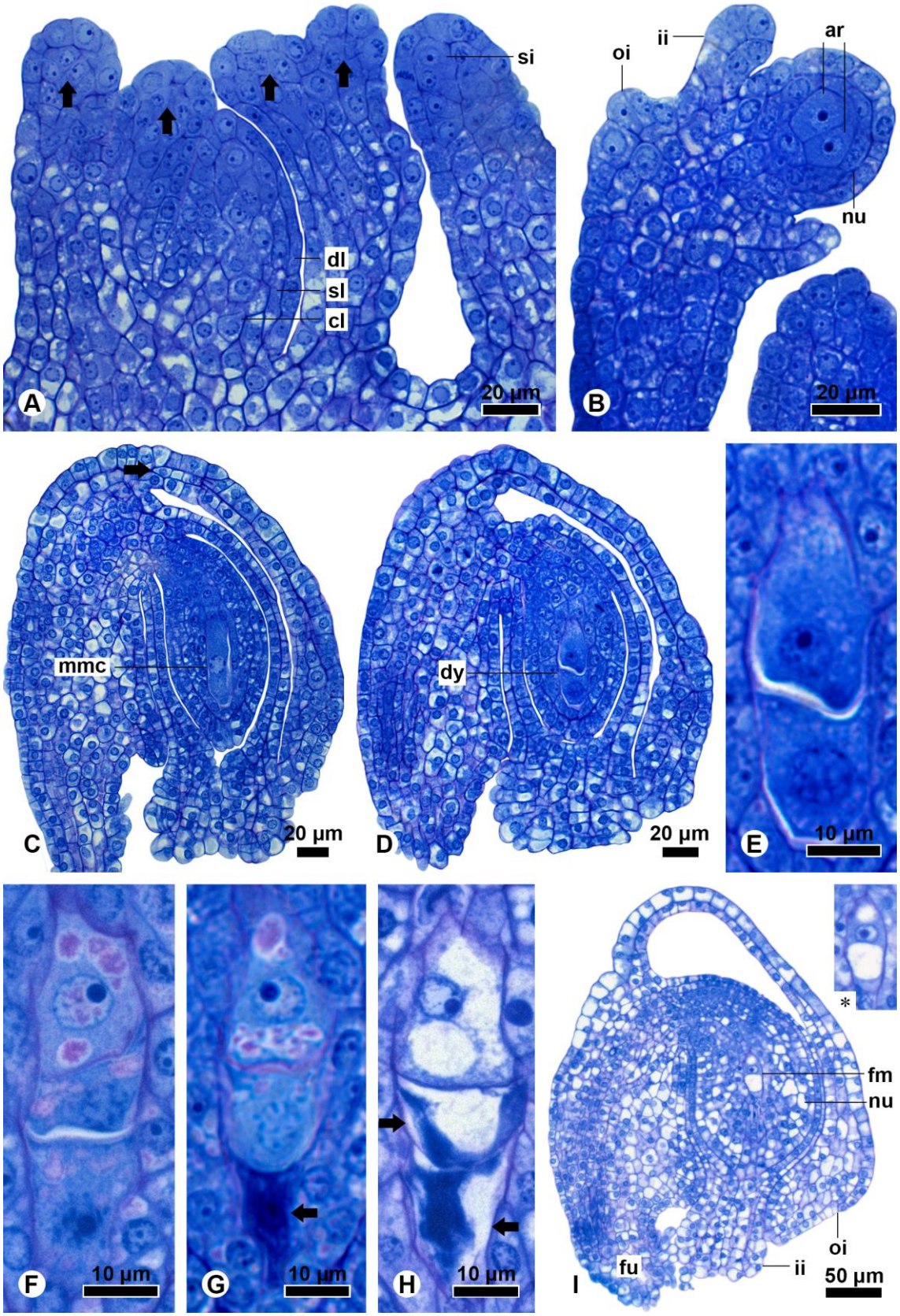



FIG. 2. Ovule development and megasporogenesis in *P. haselbergii*. (A) Ovule primordium formation and subdermal initial cell differentiation (arrows: secondary ovule primordia). (B) Ovule in early developmental stage, with the archesporium composed of

a single archespore. (C) Ovule in megaspore mother cell stage (arrow: third layer in the outer integument). (D) Ovule in megaspore dyad stage (arrow: third layer in the inner integument). The chalazal megaspore in anaphase indicates the transition to the megaspore triad stage. (E) Ovule in megaspore triad stage (arrow: third layer in the inner integument). (F–J) Details of the megasporogenesis process. (F) Megaspore mother cell. (G) Megaspore dyad transitioning to the triad stage. (H) Megaspore triad. (I) First degenerated megaspore (arrow). (J) Two degenerated megaspores (arrows) and the establishment of the chalazal megaspore as the functional megaspore, which is undergoing vacuolization. ar, archesporium/archespore; cl, central layer; dl, dermal layer; dy, megaspore dyad; fu, funiculus; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; si, subdermal initial cell; sl, subdermal layer; tr, megaspore triad.


si
dl
sl
cl
A
20 µm
ii
oi
ar
nu
B
20 µm
mmc
C
20 µm
dy
D
20 µm
E
10 µm
F
10 µm
G
10 µm
H
10 µm
*
fm
nu
oi
fu
ii
I
50 µm

1

FIG. 3. Ovule development and megasporogenesis in *P. leninghausii*. (A) Ovule primordium formation and subdermal initial cell differentiation (arrows: secondary ovule primordia). (B) Ovule in early developmental stage, with the archesporium composed of two archespores. (C) Ovule in megaspore mother cell stage (arrow: third layer in the outer integument). (D) Ovule in megaspore dyad stage. (E–H) Details of the megasporogenesis process. (E) Megaspore dyad. (F) Megaspore triad. (G) First degenerated megaspore (arrow). (H) Two degenerated megaspores (arrows) and establishment of the chalazal megaspore as the functional megaspore. (I) Ovule in vacuolated functional megaspore stage (*: detail of functional megaspore). ar, archesporium/archespore; cl, central layer; dl, dermal layer; dy, megaspore dyad; fm, functional megaspore; fu, funiculus; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; si, subdermal initial cell; sl, subdermal layer.

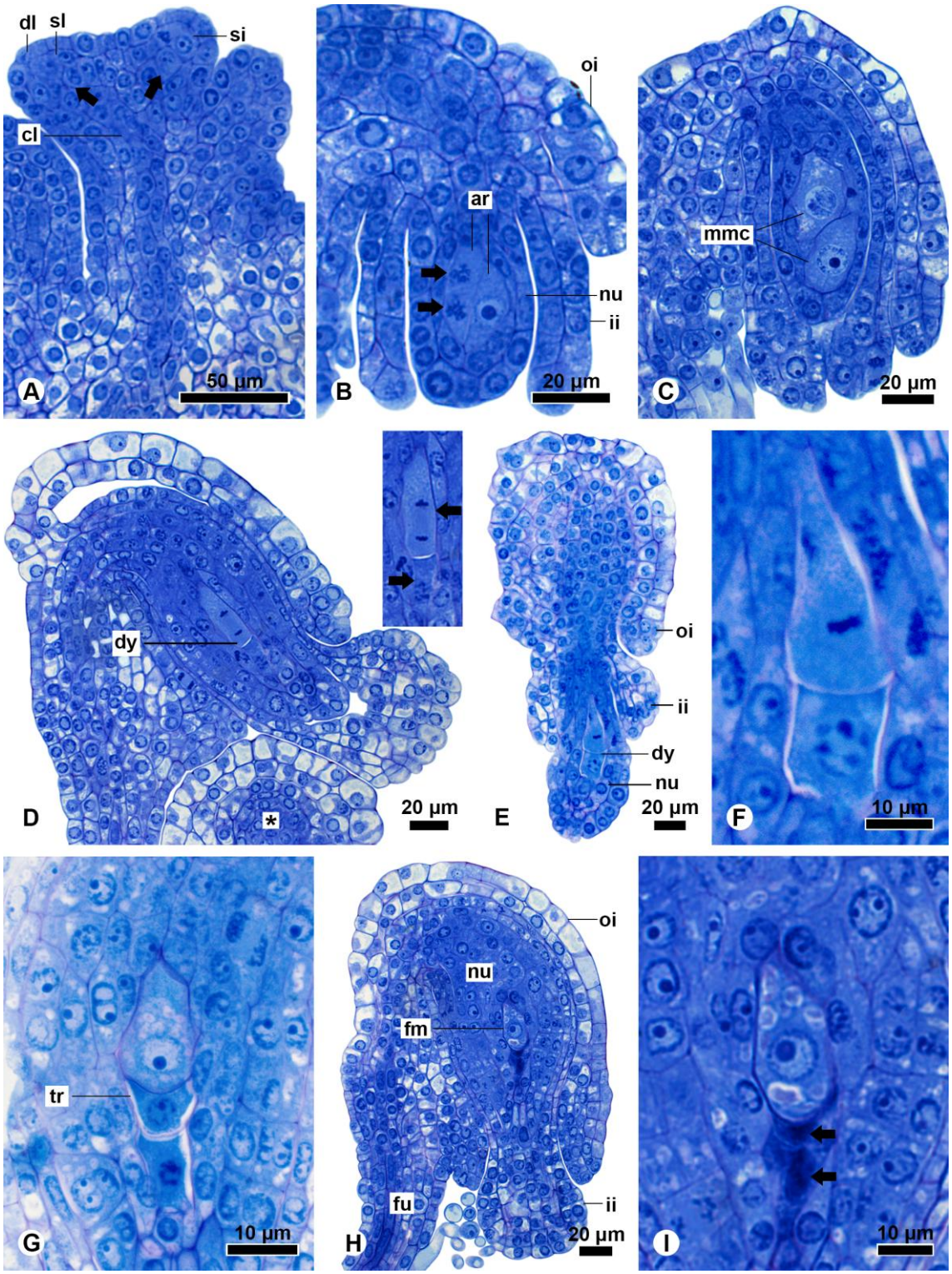
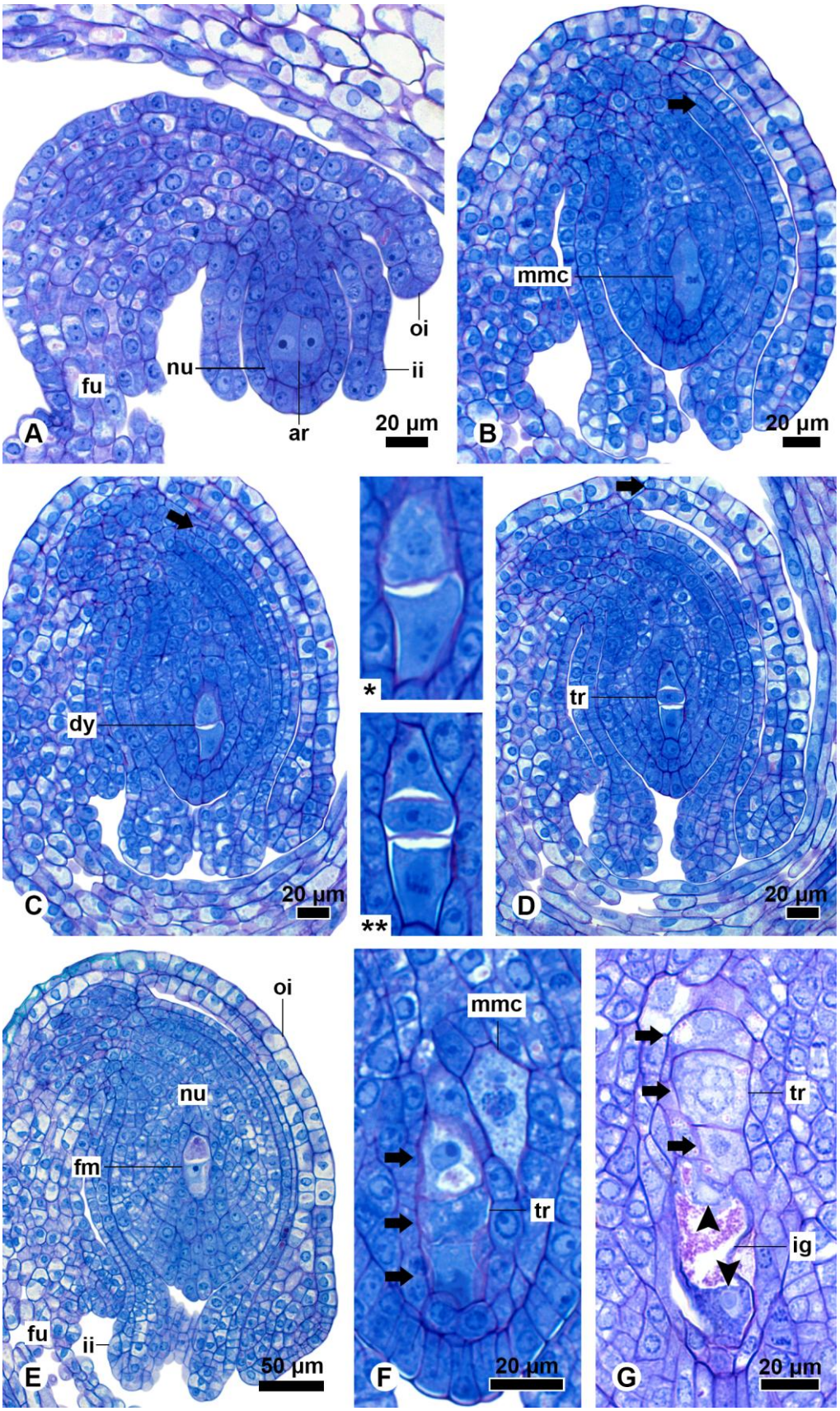



FIG. 4. Ovule development and megasporogenesis in *P. microsperma*: (A) Ovule primordium formation and subdermal initial cell differentiation (arrows: secondary ovule primordia). (B) Ovule in early developmental stage, with the archesporium composed of

two archespores, one of which is finishing a mitotic division and giving rise to two new cells (arrows). (C) Ovule with two megaspore mother cells. (D) Ovule in megaspore dyad stage, with the chalazal megaspore in anaphase indicating the transition to triad (arrows: megaspores of the dyad). Another ovule (*), developing below the mentioned ovule, displaces the micropylar region of the first one. (E, F) Projection of the dyad of megaspores beyond the limits of the micropyle, along with the nucellus. The chalazal megaspore in metaphase indicates the transition to triad. (G) Megaspore triad. (H) Ovule in functional megaspore stage, with structure in advanced development. (I) Detail of the vacuolating functional megaspore (arrows: degenerated megaspores). ar, archesporium/archespore; cl, central layer; dl, dermal layer; dy, megaspore dyad; fm, functional megaspore; fu, funiculus; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; si, subdermal initial cell; sl, subdermal layer; tr, megaspore triad.


A
fu
nu
ar
oi
ii
20 µm
B
mmc
20 µm
C
dy
20 µm
*
**
D
tr
20 µm
E
oi
nu
fm
fu
ii
50 µm
F
mmc
tr
20 µm
G
tr
ig
20 µm

1

FIG. 5. Ovule development and megasporogenesis in *P. ottonis*. (A) Ovule in early developmental stage, with the archesporium composed of two archespores. (B) Ovule in megaspore mother cell stage (arrow: third layer in the inner integument). (C) Ovule in megaspore dyad stage (*: detail) (arrow: third layer in the inner integument). (D) Ovule in megaspore triad stage, with micropylar megaspore in metaphase (**: detail) (arrow: third layer in the outer integument). (E) Ovule in functional megaspore stage. (F) Megaspore triad and megaspore mother cell in the same ovule (arrows: megaspores of the triad). (G) Megaspore triad and immature binucleate gametophyte in the same ovule (arrows: megaspores of the triad; arrowheads: nuclei of immature gametophyte). ar, archesporium/archespore; dy, megaspore dyad; fm, functional megaspore; fu, funiculus; ig, immature gametophyte; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; tr, megaspore triad.

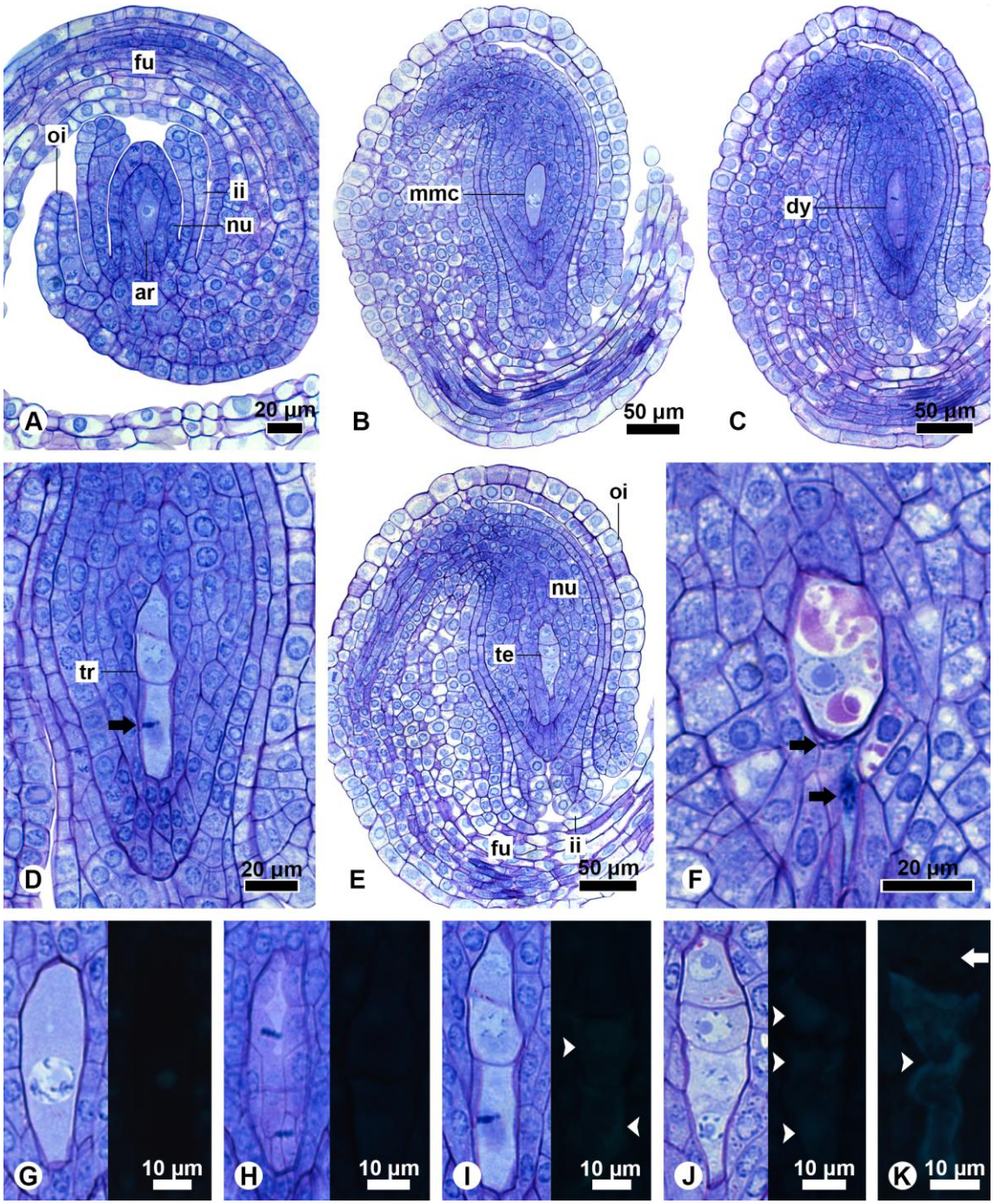
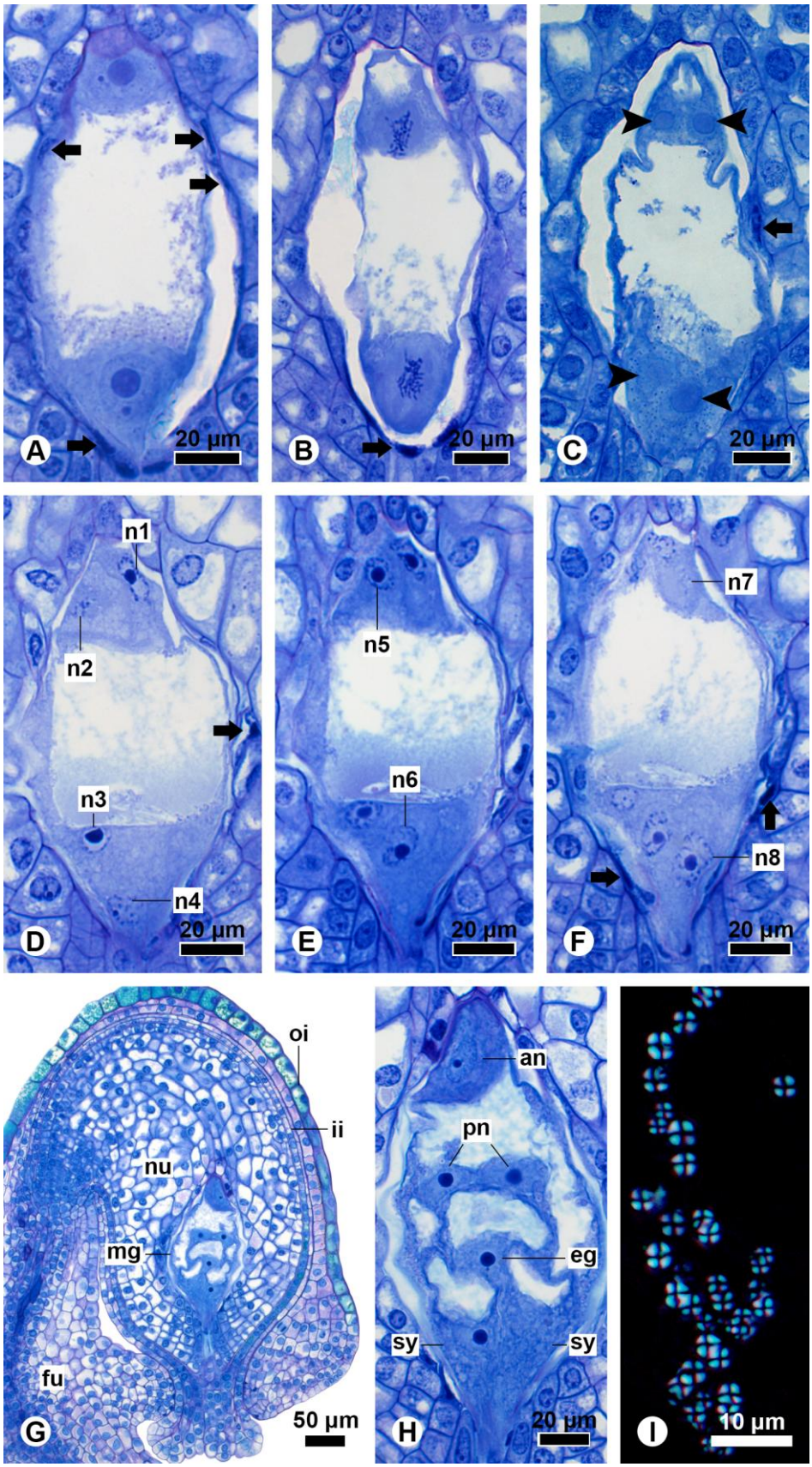



FIG. 6. Ovule development and megasporogenesis in *P. rechensis*. (A) Ovule in early developmental stage, with the archesporium composed of a single archespore. (B) Ovule in megaspore mother cell stage. (C) Ovule in megaspore dyad stage, with two megaspores in metaphase indicating transition to tetrad. (D) Megaspore triad, with micropylar megaspore in metaphase (arrow). (E) Ovule in tetrad megaspore stage. (F) Functional

megaspore undergoing vacuolation (arrows: degenerated megaspores). (G–K) Detailed process of megasporogenesis, with each detail accompanied by an image obtained after aniline blue test under epifluorescence. (G) Megaspore mother cell. (H) Megaspore dyad. (I) Megaspore triad with initial deposition of callose inside micropylar and intermediate megaspores (arrowhead). (J) Megaspore tetrad with callose deposition inside all three megaspores (arrowhead) slightly bigger than in the triad phase. (K) Functional megaspore (arrow). Presence of callose inside degenerated megaspores (arrowhead). ar, archesporium/archespore; dy, megaspore dyad; fu, funiculus; ii, inner integument; mmc, megaspore mother cell; nu, nucellus; oi, outer integument; te, megaspore tetrad; tr, megaspore triad.


A
20 µm
B
20 µm
C
20 µm
n1
n2
n3
n4
D
20 µm
n5
n6
E
20 µm
n7
n8
F
20 µm
oi
ii
nu
mg
fu
G
50 µm
an
pn
eg
sy
sy
H
20 µm
I
10 µm

1

FIG. 7. Megagametogenesis in *P. erinacea*. (A) Binucleate gametophyte, after the first mitosis of megagametogenesis (arrows: degenerated nucellar cells). (B) Second mitosis with both nuclei in metaphase (arrows: degenerated nucellar cells). (C) Tetranucleate gametophyte (arrowheads: nuclei). (D–F) Octonucleate gametophyte (arrows: degenerated nucellar cells). (G) Fully developed ovule. (H) Detail of the mature gametophyte. (I) Starch grains present in the mature gametophyte, observed through the use of polarized light. an, antipodal cell; eg, egg cell; fu, funiculus; ii, inner integument; mg, mature gametophyte; n1-n8, nuclei; nu, nucellus; oi, outer integument; pn, polar nuclei; sy, synergid.

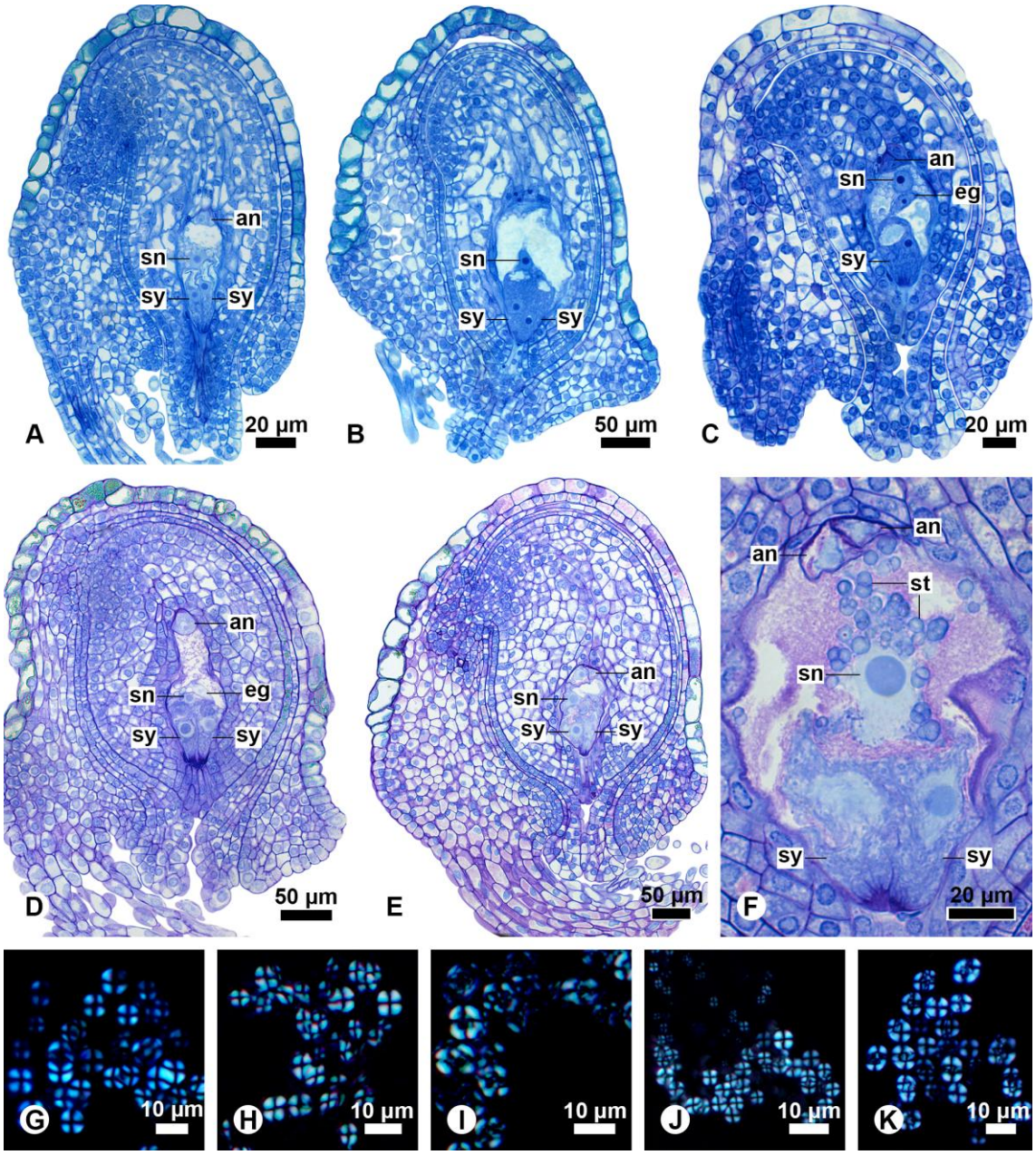



FIG. 8. Fully developed ovule and gametophyte in *Parodia*. (A) *P. haselbergii*. (B) *P. leninghausii*. (C) *P. microsperma*. (D) *P. ottonis*. (E) *P. rechensis*. (F) Detailed view of the gametophyte of *P. rechensis*, allowing for the observation of two antipodal cells in the process of degeneration. (G–K) Starch grains present in the mature gametophyte, detected using polarized light. (G) *P. haselbergii*. (H) *P. leninghausii*. (I) *P. microsperma*. (J) *P. ottonis*. (K) *P. rechensis*. an, antipodal cell; eg, egg cell; sn, secondary nucleus; st, starch grains; sy, synergid.

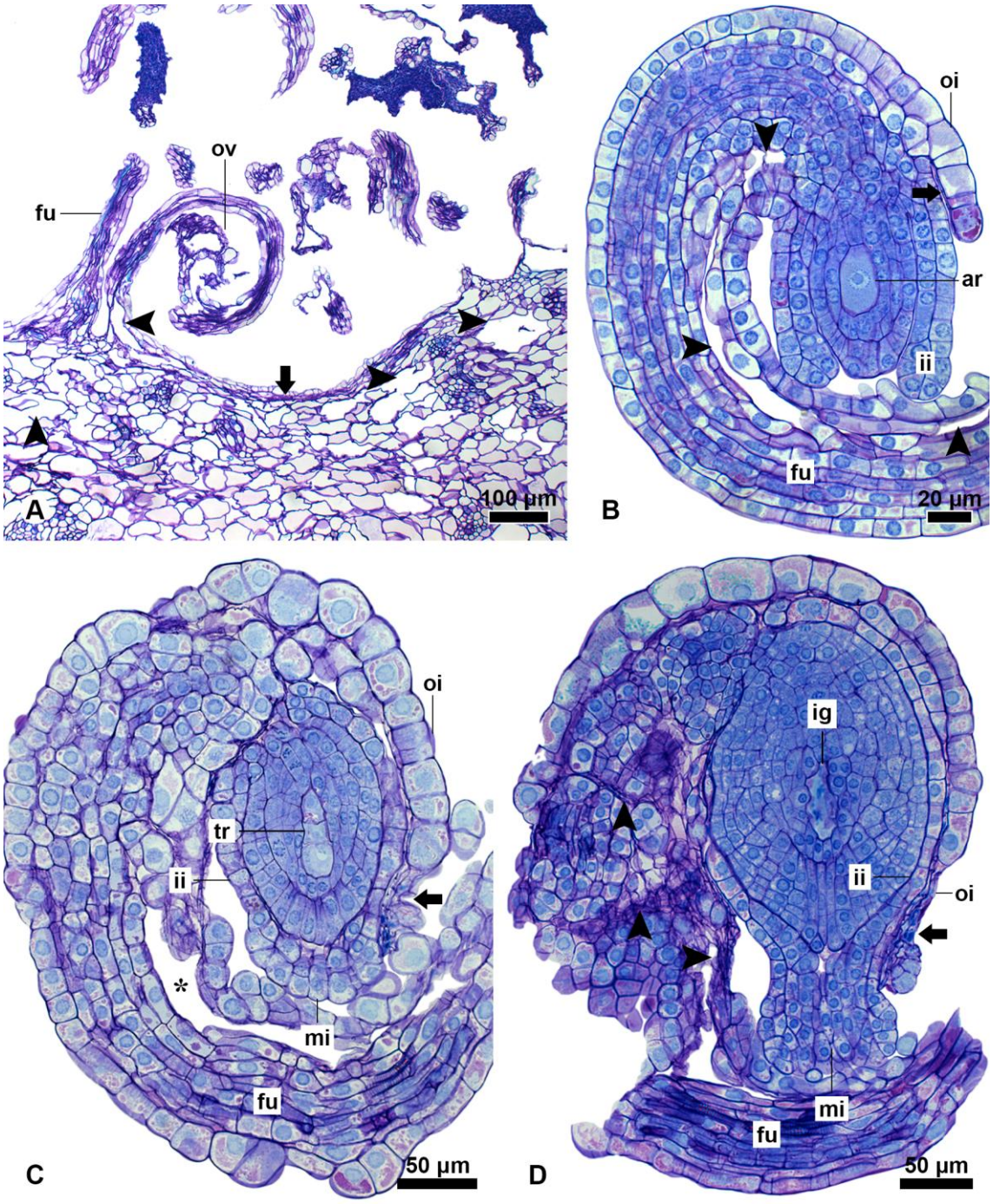



FIG. 9. Ovule malformation in different developmental stages in *P. rechensis* ovules. (A) Structural impairment of the ovary and placenta resulting in ovule abortion (arrow: collapsed placenta; arrowhead: intercellular spaces due to loosened cells). (B) Beginning of the degeneration process in a young ovule. In this stage, the outer integument does not develop the second layer of cells (arrow) and the funiculus presents abnormal intercellular

spaces (arrowhead). (C) Ovule in triad megaspore stage. Both integuments fail to develop the second layer of cells, with the outer integument showing cellular degeneration near the micropyle (arrow). Abnormal intercellular spaces in the funiculus (*). (D) Ovule in advanced development stage, with malformation of the integuments, cellular degeneration of the outer integument near the micropyle (arrow), and degeneration of cells in the funiculus and chalaza region (arrowhead). ar, archesporium/archespore; fu, funiculus; ig, immature gametophyte; ii, inner integument; mi, micropyle; oi, outer integument; ov, ovule; tr, megaspore triad.

TABLE 1. *Distinct traits observed among the species of Parodia.*

| Trait/species | *P. erinacea* | *P. haselbergii* | *P. leninghausii* | *P. microsperma* | *P. ottonis* | *P. rechensis* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Archespores number and PCD extension | 1 cell | 1 cell | 2 cells | 1 or 2 cells | 2 cells | 1 cell |
| Mitotic division of archespores | Absent | Absent | Absent | Present | Absent | Absent |
| Meiosis extension | 1 cell | 1 cell | 1 or 2 cells | 1 or 2 cells | 1 or 2 cells | 1 cell |
| Meiosis gradient | Absent | Absent | Absent | Present* | Present* | Absent |
| Apomixis | Present | Absent | Absent | Absent | Absent | Absent |
| Number of megaspores | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 |
| Cell selection mechanism | Pre-meiotic | Pre-meiotic | Pre-meiotic and post-meiotic | Pre-meiotic and meiotic | Pre-meiotic and post-meiotic | Pre-meiotic |
| Antipodals | Persistent** | Persistent** | Ephemeral | Persistent** | Persistent** | Ephemeral |
| Nucellar projection | Absent | Absent | Absent | Present | Absent | Absent |

PCD = Pre-meiotic cellular differentiation

* = Present in ovules where the meiosis extends to two cells.

** = In the fully developed ovule.